

BIOCHIMIE CLINICĂ

FUNDAMENTARE FIZIOPATOLOGICĂ



Sub redacția
M. Cucuianu
I. Crîșnic
Luminița Plesca-Manea

Daci

PREFAȚĂ

Manualele de Biochimie Clinică publicate în 1977 (Vl.I) și 1979 (Vl.II) s-au epuizat de mult și sunt, de altfel, în mare măsură depășite, iar volumul "Biochimie Aplicații clinice" apărut în 1991 într-un tiraj limitat, a dispărut din librării în decurs de câteva săptămâni de la publicare.

Pe de altă parte, cursul de Biochimie clinică inițiat la Cluj cu studenții anului IV Medicină și cu rezidenții în specialitatea laborator clinic s-a extins și în alte centre universitare, iar țări din Comunitatea Europeană (de exemplu Grecia) nu recunosc diplomele care nu includ un examen de Biochimie clinică.

S-a ivit deci necesitatea unei reluări și completări a materialelor publicate anterior.

În alegerea diverselor capitole, ne-am orientat în funcție de frecvența cu care anumite explorări biochimice sunt solicitate laboratorului de către secțiile clinice.

Ca urmare, acest volum cuprinde 10 capitole și anume: 1) Metabolismul lipidelor și ateroscleroza; 2) Bazele fiziopatologice ale explorării proteinelor plasmatice; 3) Concepte de bază și interpretarea variațiilor patologice ale enzimelor serice; 4) Fiziopatologia biochimică a secreției biliare; 5) Bazele fiziopatologice ale explorării funcțiilor ficatului; 6) Metabolismul fierului, cuprului și zincului; 7) Metabolismul calciului, fosforului și magneziului; 8) Anomaliile echilibrului acido-bazic; 9) Anomaliile echilibrului hidromineral; 10) Acidul uric și guta.

Deși explorarea glicemiei este frecvent solicitată laboratorului, nu am abordat metabolismul hidraților de carbon, întrucât diabetul zaharat este prelat în extenso în cadrul medicinei interne, există numeroase tratate de diabetologie, iar în unele centre medicale s-au înființat discipline profilate pe studiul diabetului zaharat.

Menționăm că o serie de manuale de laborator clinic și chiar de Biochimie clinică se limitează la o înșiruire de stări patologice în care survine o abatere de la normal a unei anumite variabile explorate în laboratorul de biochimie. Spre deosebire de aceste compendii, în prezentul volum, mai mult decât în cele redactate anterior, am insistat asupra mecanismelor prin care se poate ajunge la o deviere de la normal a constantelor biochimice și asupra modului în care astfel de anomalii determină manifestări patologice. Avem convingerea că, în acest fel, medicii precum și biologii și chimiștii care lucrează în laboratoarele clinice vor înțelege mai bine valoarea diagnostică și limitele diverselor investigații biochimice. Ca urmare, titlul de Biochimie clinică - Fundamentare Fiziopatologică ni se pare mai adecvat conținutului.

Suntem însă conștienți că progresul științei și în special datele de biologie moleculară vor face ca unele din interpretările pe care le redăm astăzi să devină perimate.

Apariția acestui volum nu ar fi fost posibilă fără sprijinul generos și dezinteresat acordat de Universitatea de Vest "Vasile Goldiș" din Arad, firma S.C.Lacurezeana S.R.L.Arad pre-

cum și de către firmele clujene D.G.Instrumente științifice, TEMCO și REDOX la care se adaugă firma NOBIS din Germania.

Tuturor celor care ne-au ajutat le aducem mulțumiri pe această cale. Suntem totodată recunoscători Editurii Dacia de care ne leagă o veche și fructuoasă colaborare.

CUPRINS

	Pag.
Prefață.....	5
1. Metabolismul lipidelor și ateroscleroza. (M.Cucuianu, Luminița Pleșca-Manea).....	15
1.1. Metabolismul lipoproteinelor și transportul plasmatic al lipidelor	16
1.1.1. Clase de lipoproteine	17
1.1.2. Apoproteinele	20
1.1.3. Componente lipidice ale lipoproteinelor.....	22
1.1.3.1. Trigliceridele	22
1.1.3.2. Fosfolipidele	23
1.1.3.3. Colesterolul	23
1.1.4. Mecanisme implicate în transportul plasmatic al lipidelor	24
1.1.4.1. Transportul sub formă de chilomicroni.....	25
1.1.4.2. Transportul sub formă de acizi grași liberi.....	27
1.1.4.3. Transportul de lipide încorporate în lipoproteine	30
1.1.4.3.1. Sinteza și secreția de lipoproteine	30
1.1.4.3.2. Modificări suferite de lipoproteine în plasmă	30
1.1.4.3.3. Captarea lipoproteinelor la nivelul unor receptori	32
1.1.4.3.4. Transportul de la țesuturi extrahepatice la ficat	34
1.2. Explorarea metabolismului lipidic în laboratorul clinic	36
1.2.1. Etapa analizelor de orientare	36
1.2.2. Etapa analizelor complementare	38
1.3. Anomalii ale metabolismului lipidic	39
1.3.1. Hiperlipidemii secundare	39
1.3.1.1. Hiperlipoproteinemia din diabetul zaharat	40
1.3.1.2. Hiperlipoproteinemia din sindromul nefrotic	40
1.3.1.3. Hiperlipoproteinemia alcoolicilor	41
1.3.1.4. Hiperlipoproteinemia din hipotiroidism	41
1.3.1.5. Hiperlipoproteinemia din colestază	42
1.3.1.6. Hiperlipidemii asociate hiperimuno-globulinemiilor	43
1.3.1.7. Hipolipidemii secundare	43
1.3.2. Dereglări cu caracter primar în metabolismul lipoproteinelor	44
1.3.2.1. Hiperlipoproteinemii cu caracter familial	44
1.3.2.1.1. Creșterea chilomicronilor (HLP tip I)	44
1.3.2.1.2. Creșterea betalipoproteinelor (HLP tip IIa)	45
1.3.2.1.3. Creșterea beta VLDL (disbeta-lipoproteinemia, HLP tip III).....	48
1.3.2.1.4. Creșterea prebetalipoproteinelor (tipurile IIb, IV și V)..	49

1.3.2.2. Analiza critică a criteriilor de clasificare a hiperlipoproteinemiilor.....	52
1.3.2.3. Alte anomalii ale lipoproteinelor și lipidelor	54
1.3.2.3.1. Prezența de LDL anormale (beta-sitosterolemia și xantomatoza cerebrotendinoasă)	54
1.3.2.3.2. Deficite de chilomicroni, VLDL și LDL (abetalipoproteinemia și hipobetalipoproteinemia).....	54
1.3.2.3.3. Deficitul de HDL	55
1.3.2.3.4. Deficitul familial de lecitin: colesterol aciltransferază... 56	
1.3.2.3.5. Deficitul de hidroliză intracelulară a esterilor de colesterol	56
1.3.2.3.6. Anomalii ale sfingolipidelor (teaurismoze lipidice)	58
1.4. Lipoproteinele și aterogeneza	58
1.4.1. Acumulări de colesterol în peretele arterial.....	58
1.4.2. Proliferarea celulelor musculare netede și formarea de țesut conjunctiv	61
1.4.3. Mecanisme implicate în destabilizarea unei plăci ateromatoase și formarea unei plăci vulnerabile	62
1.4.4. Rolul trombozei în aterogeneză și în complicațiile aterosclerozei	62
1.4.5. Anomalii ale endoteliilor	64
1.4.6. Rolul proceselor imune	64
1.4.7. Intricări ale mecanismelor aterogene	65
1.5. Bazele biochimice ale terapiei hipolipemiente	66
1.5.1. Măsuri igienodietetice	66
1.5.2. Medicamente cu efect hipolipemiant	67
1.5.2.1. Acidul nicotinic și analogii săi	67
1.5.2.2. Derivații acidului izobutiric (fibrati)	67
1.5.2.3. Sechestranti ai acizilor biliari (colestiramina și colestipolul)	68
1.5.2.4. Inhibitori ai HMG-CoA reductazei (statine)	69
1.5.2.5. Probucolul	69
1.5.2.6. Alte medicamente cu efect hipolipemiant	71
Bibliografie selectivă	72
Întrebări de control	75
 2. Bazele Fiziopatologice ale explorării proteinelor plasmatice.	
(H.G. Rus, F.Niculescu, M.Cucuianu)	80
2.1. Generalități privind proteinele plasmatice	82
2.1.1. Metabolismul proteinelor plasmatice	82
2.1.1.1. Sinteza proteinelor plasmatice	82
2.1.1.1.1. Reglarea sintezei de proteine plasmatice, citokinele	82
2.1.1.1.2. Factori de transcripție reglatori ai expresiei genelor care codifică proteinele plasmatice	87
2.1.1.2. Distribuția proteinelor plasmatice	88
2.1.1.3. Catabolismul proteinelor plasmatice	88
2.1.2. Funcțiile proteinelor plasmatice	89
2.2. Principalele proteine plasmatice. Biochimie și Fiziopatologie	90
2.2.1. Albumina	90
2.2.2. Inhibitori plasmatici ai proteazelor	92

2.2.2.1. α_1 antitripsina	92
2.2.2.2. α_1 antichimotripsina	95
2.2.2.3. α_2 antiplasmina	95
2.2.2.4. Antitrombina III	96
2.2.2.5. α_2 macroglobulina	96
2.2.2.6. Alți inhibitori ai proteazelor	97
2.2.3. α_1 glicoproteina acidă	97
2.2.4. Proteina C reactivă	98
2.2.5. Haptoglobinele	98
2.2.6. Proteinele serice ale amiloidului	99
2.2.7. Considerații asupra proteinelor de fază acută	99
2.2.8. Transferina	100
2.2.9. Fibronectina	101
2.2.10. Vitronectina	101
2.2.11. β_2 microglobulina	102
2.2.12. Sistemul complement	102
2.2.13. Imunoglobulinele	106
2.2.13.1. Hiperimunoglobulinemii policlonale	108
2.2.13.2. Hiperimunoglobulinemii monoclonale (mielomul multiplu, macroglobulinemia Waldenström, boala lanțurilor grele)	109
2.2.13.3. Sindroame de imunodeficiență prin scăderea producției de imunoglobuline	112
2.3. Tipuri de disproteinemie	113
Bibliografie selectivă	116
Întrebări de control	119

3. Concepte de bază în interpretarea variațiilor patologice ale enzimelor serice.

(M.Cucuianu)	122
3.1. Date generale privind enzimele	122
3.1.1. Clasificarea și nomenclatura enzimelor	123
3.1.2. Structura și mecanismul de acțiune a enzimelor	123
3.1.2.1. Specificitatea unei reacții enzimatică	126
3.1.2.2. Principii de determinare a unei reacții enzimatică	126
3.1.2.3. Factori de care depinde viteza unei reacții enzimatică	127
3.2. Activitatea enzimatică în celulele vii	134
3.2.1. Distribuția intracelulară a enzimelor	134
3.2.2. Variante ale enzimelor. Izoenzime	136
3.2.3. Reglarea activităților enzimatică	136
3.2.3.1. Efectori alosterici	136
3.2.3.2. Formarea de enzime active din precursori inactivi	137
3.2.3.3. Reglarea sintezei de enzime	139
3.2.3.3.1. Mecanisme moleculare implicate în inducere, represie și derepresie	141
3.2.3.3.2. Implicații medicale ale inducerii de enzime microsomale	141
3.3. Bazele fiziopatologice ale diagnosticului enzimatic	144
3.3.1. Proveniența enzimelor plasmatică	144

3.3.2. Eliminarea din plasmă a enzimelor	145
3.3.3. Activități enzimatice în urină	146
3.4. Valoarea diagnostică a determinărilor de enzime.....	146
3.4.1. Enzimele serice în infarctul miocardic.....	146
3.4.1.1. Valoarea diagnostică și limitele determinărilor de CK.....	150
3.4.1.2. Utilitatea determinărilor de ASAT.....	151
3.4.1.3. Rolul determinărilor de LDH.....	151
3.4.1.4. Rolul determinărilor de enzime în diagnosticul complicațiilor infarctului miocardic	151
3.4.1.5. Evaluarea critică a comportării enzimelor serice în infarctul miocardic și în alte boli ale miocardului	152
3.4.2. Modificări ale enzimelor serice în bolile musculaturii	153
3.4.2.1. Alți parametri de laborator utilizați în diagnosticul bolilor miocardului și ale musculaturii striate	154
3.4.3. Rolul dozărilor de enzime în hematologia clinică	154
3.4.4. Determinări de enzime serice în boli ale oaselor	158
3.4.5. Dozările de fosfatază acidă în carcinomul prostatei	159
3.4.6. Dozări de enzime în bolile pancreasului	159
3.4.6.1. Pancreatita acută	160
3.4.6.2. Pancreatita cronică	161
3.4.6.3. Enzimele serice în carcinomul pancreasului	162
3.4.7. Enzimele serice în bolile ficatului (vezi și cap.5).....	162
Bibliografie selectivă	163
Întrebări de control	164
4. Fiziopatologia biochimică a secreției biliare. (M.Cucuianu.).....	169
4.1. Metabolismul bilirubinei	169
4.1.1. Formarea bilirubinei	169
4.1.2. Transportul, conjugarea și eliminarea prin bilă a bilirubinei.....	170
4.1.3. Transformări suferite de bilirubină în intestin (urobilinogenii)	172
4.1.4. Metode de explorarea a metabolismului bilirubinei.....	173
4.1.5. Particularități ale metabolismului bilirubinei la nou născut	174
4.2. Sindromul icteric	175
4.2.1. Icterele hemolitice	176
4.2.2. Icterele colestatice	178
4.2.3. Icterele hepatocelulare	180
4.2.4. Hiperbilirubinemii prin defecte genetice în metabolismul bilirubinei..	181
4.2.4.1. Sindromul Gilbert	181
4.2.4.2. Sindromul Crigler-Najjar.....	181
4.2.4.3. Anomalii genetice evoluând cu creșterea bilirubinei conjugate (sindromul Dubin-Johnson, sindromul Rotor, sindromul stocării hepatice).....	183
4.3. Acizii biliari (Fiziopatologie biochimică)	185
4.3.1. Sinteza acizilor biliari	187
4.3.2. Circuitul enterohepatic al acizilor biliari.....	187
4.3.3. Reglarea sintezei de acizi biliari.....	189
4.3.4. Aspecte cantitative ale circulației entero-hepatice a acizilor biliari (Noțiunile de secreție, sinteză și rezervor de acizi biliari)	189

4.3.5. Rolul fiziologic al acizilor biliari	190
4.3.5.1. Acizii biliari și fluxul biliar apos.....	190
4.3.5.2. Acizii biliari și metabolismul lipidic	191
4.3.5.3. Efecte asupra funcției colonului.....	192
4.4. Acizii biliari în patologie	192
4.4.1. Deficitul de acizi biliari.....	194
4.4.2. Acizii biliari și litiaza biliară	194
4.4.3. Toxicitatea acizilor biliari	195
4.4.4. Acizii biliari și colestaza	196
4.4.5. Acizii biliari ca test de explorare funcțională a ficatului	198
Bibliografie selectivă	198
Întrebări de control	200
5. Bazele fiziopatologice ale explorării funcțiilor ficatului.(M. Cucuianu)	204
5.1. Teste care reflectă o inflamație cronică în interstițiu.....	204
5.2. Teste care indică o creștere a permeabilității membranei hepatocitelor	205
5.3. Teste care indică o insuficiență funcțională a ficatului	208
5.3.1. Teste care furnizează relații privind sinteza hepatică de proteine	208
5.3.2. Teste care explorează capacitatea metabolică a ficatului	211
5.3.2.1. Evaluarea capacității metabolice a ficatului prin încărcarea cu metaboliți fiziologici	211
5.3.2.2. Evaluarea capacității ficatului de a metaboliza și elimina substanțe străine organismului (xenobiotice)	213
5.4. Teste indicatoare ale colestazei	214
5.4.1. Enzime indicatoare ale colestazei	215
5.4.2. Creșterea nivelului seric al acizilor biliari	217
5.4.3. Creșterea bilirubinei conjugate	218
5.4.4. Lipoproteina X	219
5.5. Explorări cu rol de precizare a etiologiei unor boli hepatice	219
5.6. Rolul citokinelor în bolile ficatului	220
5.7. Fiziopatologia biochimică a fibrozei hepatice	221
5.8. Evaluarea critică a explorărilor biochimice în bolile ficatului	224
5.9. Biochimia comei hepatice. Encefalopatia hepatică	225
Bibliografie selectivă	227
Întrebări de control	228
6. Metabolismul fierului, cuprului și zincului. (Luminița Pleșca-Manea, M.Cucuianu)..	232
6.1. Distribuția fierului în organism. Compuși conținând fier	232
6.1.1. Hemoproteine	232
6.1.2. Fierul de depozit (Feritina și Hemosiderina).....	234
6.1.3. Fierul de transport. Transferina	235
6.2. Circuitul fierului în organism	236
6.2.1. Absorbția fierului	236
6.2.2. Transportul și utilizarea fierului	236
6.2.3. Eliminările de fier	238
6.2.4. Aspecte moleculare ale reglării metabolismului fierului	239
6.3. Necesitățile de fier ale organismului	239
6.4. Metode de explorare a metabolismului fierului	242

6.4.1. Investigații care nu implică utilizarea izotopilor	242
6.4.2. Ferocinetica	245
6.5. Anomalii în metabolismul fierului	247
6.5.1. Deficitul de fier	248
6.5.2. Deficitul de transferină	250
6.5.3. Supraincercarea cu fier	251
6.6. Metabolismul cuprului	252
6.6.1. Distribuția și funcțiile cuprului în organism	252
6.6.2. Circuitul cuprului în organism	253
6.6.3. Variații fiziologice și patologice ale cuprului și ale ceruloplasminei ..	254
6.6.4. Carența de cupru	255
6.6.5. Supraincercarea cu cupru. Boala Wilson	256
6.7. Metabolismul zincului	258
6.7.1. Variații ale concentrației serice de zinc	259
6.7.2. Deficitul de zinc	259
6.7.3. Acrodermatita enteropatică	260
Bibliografie selectivă	260
Întrebări de control	261
7. Metabolismul calciului, fosforului și magneziului. (Ioana Brudașcă, M. Cucuianu) ..	265
7.1. Date referitoare la fiziologia calciului	265
7.1.1. Repartizarea calciului în organism	265
7.1.1.1. Calciul din oase	265
7.1.1.2. Calciul plasmatic	266
7.1.2. Echilibrul calciului în organism	267
7.1.3. Reglarea calcemiei	268
7.1.3.1. Hormonul paratiroidian	268
7.1.3.2. Calcitonina	269
7.1.3.3. Vitamina D	270
7.1.4. Rolul fiziologic al calciului	272
7.2. Perturbarea metabolismului calciului	272
7.2.1. Hipocalcemiile	272
7.2.1.1. Hipoparatiroidismul	273
7.2.1.2. Hipersecreția patologică de calcitonină	273
7.2.1.3. Deficitul de vitamină D	274
7.2.1.4. Alte hipocalcemii	276
7.2.2. Hipercalcemiile	276
7.2.2.1. Hiperparatiroidismul	276
7.2.2.2. Alte hipercalcemii	278
7.2.3. Afecțiuni ale oaselor care nu modifică nivelul calcemiei	279
7.2.4. Diagnosticul diferențial al hipercalcemiilor și al bolilor osoase	280
7.2.5. Bazele biochimice ale terapiei în tulburările metabolismului calciului ..	282
7.3. Metabolismul fosforului	283
7.4. Metabolismul magneziului	285
7.4.1. Date privind fiziologia magneziului	285
7.4.2. Modificări patologice ale metabolismului magneziului	287
Bibliografie selectivă	290
Întrebări de control	291

8. Anomaliile echilibrului acido-bazic. (M.Cucuianu, I.Trif)	294
8.1. Mecanisme implicate în homeostazia echilibrului acido-bazic	294
8.1.1. Mecanism de acțiune al sistemelor tampon;	
Ecuația Henderson-Hasselbach; Noțiunea de pH.....	295
8.1.2. Mecanisme biologice de reglare a echilibrului acido-bazic	297
8.1.2.1. Rolul eritrocitelor și plămânilor; Transportul de CO ₂ în sânge ..	297
8.1.2.2. Rolul rinichilor	301
8.1.2.3. Alte mecanisme de reglare a echilibrului acido-bazic	304
8.1.2.4. Relația dintre economia potasiului și echilibrul acido-bazic	304
8.1.2.5. Efectele eliminărilor urinare de sodiu și de clor asupra echilibrului acido-bazic	306
8.2. Anomaliile ale echilibrului acido-bazic; Acidoze și alcaloze	306
8.2.1. Acidozele metabolice	307
8.2.1.1. Utilizarea crescută a bicarbonaților în procesul de tamponare (stări patologice care duc la o supraproducție de H ⁺)	307
8.2.1.2. Pierderea de bicarbonați în tubul digestiv	309
8.2.1.3. Perturbarea mecanismelor tubulare cu rol de generare a bicar- bonaților	309
8.2.2. Alcalozele metabolice	310
8.2.3. Acidozele respiratorii și hipoxia	311
8.2.3.1. Stări patologice care perturbă funcția alveolelor pulmonare ...	311
8.2.3.2. Comportarea PCO ₂ și PO ₂ în disfuncțiile respiratorii	313
8.2.4. Alcaloza respiratorie.....	316
8.3. Explorarea echilibrului acido-bazic	316
8.4. Principii de terapie în anomaliile echilibrului acido-bazic.....	318
Bibliografia selectivă	319
Întrebări de control	320
9. Anomaliile echilibrului hidromineral. (M.Cucuianu, I.Crisnic)	323
9.1. Apa din organism și distribuția ei în diferite compartimente	323
9.2. Electroliții din organism și distribuția lor în diferite compartimente	325
9.3. Presiunea osmotică și osmolaritatea fluidelor din organism	325
9.4. Schimburile de apă și electroliți între diferitele compartimente	327
9.4.1. Schimburile de apă și electroliți între plasmă și lichidul interstițial	327
9.4.2. Schimburi între lichidul interstițial și apa intracelulară	329
9.4.3. Particularități ale schimburilor de apă și electroliți în țesutul conjunctiv dens și oase	329
9.4.4. Schimburi de apă și electroliți la nivelul mucoaselor tractului digestiv și la nivelul rinichilor.....	330
9.5. Reglarea echilibrului hidroelectrolitic	332
9.5.1. Balanța hidrică și reglarea ingestiei și deperdiției de apă	332
9.5.2. Reglarea deperdiției de sodiu	334
9.6. Anomaliile ale echilibrului hidroelectrolitic	337
9.6.1. Pierderea în exces a apei	337
9.6.2. Pierderea în exces a sărurilor (deficitul de sodiu)	338
9.6.3. Excesul de apă (intoxicația cu apă)	339
9.6.4. Excesul de sodiu	341
9.6.5. Retenția de apă și sodiu (Edemele)	341

9.6.6. Hiperaldosteronismul primar (sindromul Conn).....	343
9.6.7. Anomalii în econoinia potasiului	344
9.6.7.1. Hipopotasemiile	345
9.6.7.2. Hiperpotasemiile	347
9.6.7.3. Deplasări bruște ale potasiului între diversele sectoare	348
9.6.8. Anomalii în balanța clorului	348
9.7. Considerații critice privind diagnosticul și terapia perturbărilor balanței hidroelectrolitice	349
Bibliografie selectivă	350
Întrebări de control	351
10. Acidul uric și guta.(I.Crîșnic)	353
10.1. Sursele de acid uric	353
10.1.1. Sinteza de purine	354
10.1.2. Soarta purinelor, formarea acidului uric	356
10.1.3. Excreția acidului uric	357
10.2. Hiperuricemiile	357
10.2.1. Hiperuricemiile secundare	357
10.2.2. Hiperuricemii primare prin enzimopatii	358
10.2.2.1. Sindromul Lesch-Nyhan	359
10.2.2.2. Alte hiperuricemii cauzate de anomalii enzimatice	359
10.3. Consecințe ale acumulările de acid uric	360
10.3.1. Guta	360
10.3.2. Acidul uric și patologia renală	361
10.3.3. Probleme de diagnostic în bolile cauzate de o acumulare de acid uric	362
10.3.4. Alte implicații patogenice ale acidului uric	362
10.4. Bazele biochimice ale terapiei hiperuricemiilor	363
Bibliografie selectivă	364
Întrebări de control	364
Tabel de transformare în sistem internațional (SI).....	367
Tabel privind valorile normale ale unor activități enzimactice.....	368

1. METABOLISMUL LIPIDELOR ȘI ATEROSCLEROZA

Existența unei legături între anomaliiile metabolismului lipidic și dezvoltarea leziunilor aterosclerotice ale vaselor este susținută de o serie de argumente de ordin experimental, de studii populaționale precum și de numeroase observații clinice și de laborator.

Primele cercetări experimentale demonstrând o încărcare cu lipide a peretelui aortei la iepure au fost criticate, acest animal ierbivor neconsumând în mod normal alimente bogate în colesterol, iar infiltrarea cu colesterol extinzându-se în acest caz și la vezica biliară, ganglionii limfatici și splină.

Studiile ulterioare, bazate pe încărcări alimentare cronice cu lipide și colesterol la animale omnivore, cum sunt porcul și maimuțele, au reprodus însă leziuni asemănătoare cu cele întâlnite în ateroscleroza umană (21,29,31).

Studiul comparativ al unor populații (studii de epidemiologie a bolilor netransmisibile) a arătat că incidența aterosclerozei și mai ales mortalitatea prin infarct miocardic sunt mai frecvente la populația din țările puternic industrializate, caracterizate și printr-un consum mai crescut de grăsimi și având un nivel mai ridicat al colesteroliei. Între țările cu o incidență deosebit de ridicată a aterosclerozei se numără Finlanda, Suedia, S.U.A. iar în ultimii ani Polonia și România, în timp ce mortalitatea prin infarct miocardic este mult mai redusă la populațiile din Vietnam, Coreea sau unele țări în curs de dezvoltare din Africa și America Latină, a căror rație alimentară este relativ săracă în grăsimi de origine animală (49,52).

Nu trebuie uitat însă că în astfel de **studii populaționale transversale** care compară diferite tipuri de populație, diferențele nu se limitează la modul de alimentație ci se extind și la alte aspecte ale modului de viață cum sunt sedentarismul, fumatul și stările de încordare psihoemoțională impuse de situațiile competitive din societățile moderne (43).

Un argument mai puternic în favoarea teoriei metabolice a aterosclerozei este furnizat de **studiile prospective** de durată (studii longitudinale) care urmăresc apariția manifestărilor clinice de ateroscleroză la subiecții care erau inițial sănătoși. Bine cunoscutul studiu de la Framingham a demonstrat astfel că, în decurs de 5 ani de urmărire, incidența infarctului miocardic a fost de patru ori mai mare la bărbații de vârstă medie, având colesterolemia peste 270 mg/dl, decât la bărbații din aceeași grupă de vârstă, având un nivel al colesterolului seric sub 200 mg/dl (28,30).

În această ordine de idei trebuie arătat că în unele țări (de ex. S.U.A.) în care s-au luat măsuri pentru reducerea consumului de dulciuri și de grăsimi saturate, s-au făcut progrese în privința renunțării la fumat și s-a promovat practicarea sistematică a exercițiului fizic, incidența complicațiilor aterosclerozei are o tendință la scădere (18). Din păcate nu același lucru se poate afirma în cazul populației din țara noastră unde se observă chiar o tendință de creștere a incidenței infarctului miocardic.

Studii clinice și de laborator au arătat că leziunile aterosclerotice survin frecvent în boli care se însoțesc de o importantă creștere a colesterolemiei (sindrom nefrotic, diabet zaharat, hipotiroidism) iar hipercolesterolemia familială duce la dezvoltarea unei ateroscleroze severe

și precoce, astfel încât homozigoții pentru această anomalie ajung la deces prin infarct miocardic, chiar înaintea vârstei de 30 de ani (8,10,43,51).

Observații clinice au mai arătat că o bună parte a bolnavilor cu cardiopatie ischemică prezintă un nivel mai crescut al lipidelor serice (colesterol și/sau trigliceride) decât subiecții clinic sănătoși de aceeași vârstă. Există însă și unele neconcordanțe între datele clinice și de laborator. Astfel se pot întâlni persoane clinic sănătoase care prezintă hiperlipidemie. În lumina studiilor prospective menționate anterior astfel de persoane pot fi însă considerate ca prezentând un important factor de risc, alături de hipertensiune și de fumat. Așa cum se va arăta ulterior, există și anumite tipuri de hiperlipoproteinemie care nu se asociază frecvent cu ateroscleroza.

Se constată și cazuri cu suferințe vasculare clinic manifestate care nu prezintă hiperlipidemie evidentă, existând mai multe explicații posibile ale acestor situații. Așa de exemplu, la bărbații vârstnici (treceți de 65 ani) nivelul lipidelor serice tinde adeseori să scadă, existând astfel posibilitatea ca leziunile aterosclerotice instalate într-o perioadă anterioară să progreseze mocnit și să se manifeste clinic la o vârstă înaintată, când alterările spectrului lipidic s-au atenuat.

De notat că în zilele următoare unui infarct miocardic acut, cu stare de șoc și congestie a ficatului, se produce o scădere a sintezei hepatice de lipoproteine. Nu trebuie uitat că arteriopatiile pot fi și de natură inflamatorie (ricketsiană, reumatică sau în cadrul unei colagenoze). De altfel, așa cum se va arăta pe parcurs, dezvoltarea aterosclerozei depinde și de anumite particularități ale structurii lipoproteice, lipoproteinele relativ mai bogate în apolipoproteina B și având dimensiuni mai reduse par a fi mai aterogene (22,33). De asemenea, scăderea lipoproteinelor cu densitate mare (HDL) conferă un risc pentru ateroscleroză chiar dacă colesterolul total nu este mult crescut (51). De notat că prezența unei lipoproteine particulare denumite Lp (a) constituie un important factor de risc independent de prezența unei hiperlipidemii (26).

Cu toate rezervele amintite, se poate afirma că determinările de lipide și lipoproteine serice sunt de un real folos practic pentru depistarea subiecților cu risc de a dezvolta ateroscleroza precoce a coronarelor precum și pentru precizarea naturii aterosclerotice a unei arteriopatii. Ca urmare, în ultimele decenii s-au realizat mari progrese în domeniul metabolismului lipidic.

1.1. METABOLISMUL LIPOPROTEINELOR ȘI TRANSPORTUL PLASMATIC AL LIPIDELOR

Lipidele sunt menținute în mediul apos al plasmei datorită formării unor complexe cu anumite grupări proteice denumite apolipoproteine sau mai simplu apoproteine. Aceste complexe alcătuind particulele de lipoproteine au de regulă o formă sferică, la suprafața lor aflându-se moleculele cu grupări polare hidrofile (proteine, fosfolipide și colesterol liber) care învelesc un miez ce conține esteri de colesterol și trigliceride cu caracter hidrofob. Legăturile dintre apoproteine și lipide se datoresc, cel puțin în parte, proprietăților lanțurilor polipeptidice capabile de a forma structuri helicoidale, având atât suprafețe hidrofobe-lipofile în contact cu miezul lipidic, cât și radicali hidrofilici în contact cu mediul apos (vezi fig. 1.1).

Deși toate lipoproteinele plasmatice conțin atât proteine cât și colesterol, trigliceride și fosfolipide, particulele lipoproteice diferă între ele în privința raportului dintre proteine și lipide, a raportului dintre diferitele componente lipidice, precum și în ceea ce privește natura apopro-

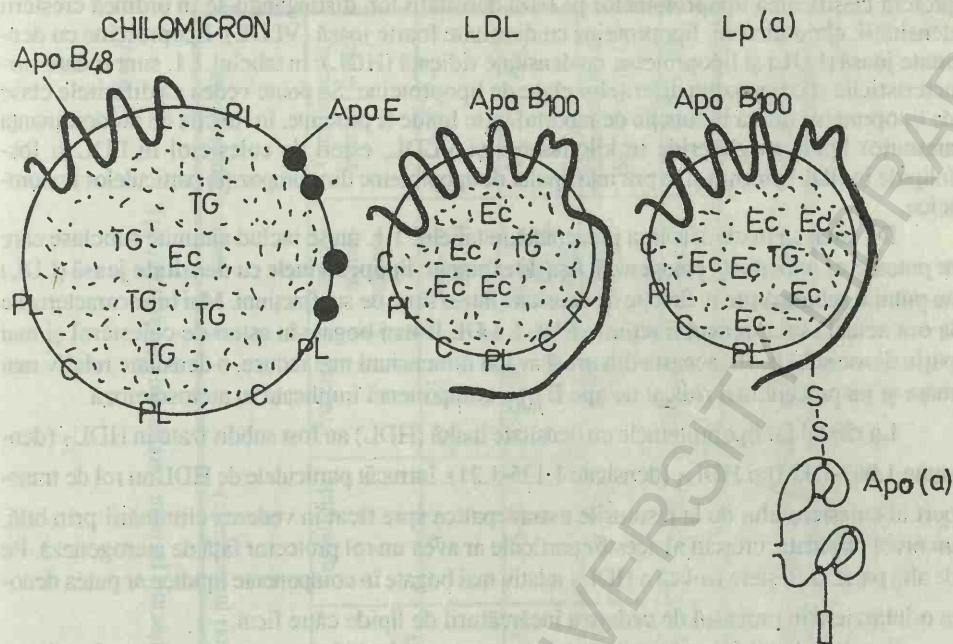


Fig.1.1. Reprezentare schematică a unor lipoproteine conținând apoproteina B. Chilomicronii conțin apoproteina B₄₈ o formă trunchiată a apoproteinei B₁₀₀ cu care sunt dotate LDL. În cazul Lp (a) - apo B₁₀₀ este legată prin punți sulfhidrice de apo (a) a cărei structură dotată cu anse în covrig (kringles) prezintă o strânsă analogie cu structura plasminogenului. C - colesterol; PL - fosfolipide; EC - esterii de colesterol; TG - trigliceride. Se poate vedea că lipoizii dotați cu grupări polare hidrofile se dispun la periferia particulelor și învelesc miezul conținând trigliceride (predominante în chilomicroni) și esterii de colesterol (predominând în LDL și Lp (a)) și care au un caracter hidrofof.

teinelor din compoziția lor. Diferența de structură se repercutează asupra proprietăților fizico-chimice ale particulelor lipoproteice, proprietăți pe care se bazează separarea diverselor clase de lipoproteine prin ultracentrifugare sau migrare electroforetică (39,51).

1.1.1. CLASE DE LIPOPROTEINE

Separarea prin ultracentrifugare se bazează pe faptul că, într-un mediu cu o anumită densitate, unele fracțiuni lipoproteice mai bogate în trigliceride dar mai sărace în proteine și având deci o densitate mai joasă, tind să urce la suprafață (să floteze). Viteza de flotare a lipoproteinelor se exprimă în unități Svedberg (Sf), o unitate Sf fiind egală cu 10^{-13} cm/S/dyn/g la 26°C. Alt mod de exprimare se bazează pe densitatea relativă a lipoproteinelor (g/ml).

Separarea electroforetică a lipoproteinelor, bazată pe diferențele în privința încărcării electrice și a dimensiunii particulelor lipoproteice, se practică pe scară largă în laboratoarele clinice utilizându-se geluri de agaroză sau, mai rar, de poliacrilamidă. Literatura de specialitate

preferă clasificarea lipoproteinelor pe baza densității lor, distingându-se în ordinea creșterii densității: chilomicroni, lipoproteine cu densitate foarte joasă (VLDL), lipoproteine cu densitate joasă (LDL) și lipoproteine cu densitate ridicată (HDL). În tabelul 1.1. sunt redată caracteristicile și compoziția diferitelor clase de lipoproteine. Se poate vedea că diferitele clase de lipoproteine diferă în funcție de raportul între lipide și proteine, în funcție de predominanța anumitor lipide (trigliceride în chilomicroni și VLDL, ester de colesterol în LDL și fosfolipide în HDL) precum și în privința tipului de apoproteine din compoziția particulelor lipoproteice.

De notat că în clasificarea prezentată în tabelul 1.1. nu se includ anumite subclase care ar putea avea importanță patogenică. Așa de exemplu: **lipoproteinele cu densitate joasă (LDL)** au putut fi subîmpărțite în funcție de densitate într-o serie de subfracțiuni. Mai bine caracterizate la ora actuală sunt trei subfracțiuni: LDL I, LDL II mai bogate în ester de colesterol și mai puțin dense și LDL III, aceasta din urmă având dimensiuni mai reduse, o densitate relativ mai mare și un procent mai ridicat de apo B₁₀₀, componentă implicată în ateroscleroză.

La rândul lor lipoproteinele cu densitate înaltă (HDL) au fost subdivizate în HDL₂ (densitate 1.063-1.125) și HDL₃ (densitate 1.125-1.21). Întrucât particulele de HDL au rol de transport al colesterolului de la țesuturile extrahepatice spre ficat în vederea eliminării prin bilă, un nivel plasmatic crescut al acestor particule ar avea un rol protector față de aterogeneză. Pe de altă parte, o creștere izolată a HDL₂ relativ mai bogate în componente lipidice ar putea denota o întârziere în procesul de cedare a încărcăturii de lipide către ficat.

Tot din tabelul 1.1. a reieșit o oarecare corespondență între separările electroforetice și cele bazate pe ultracentrifugare. Se întâlnesc însă și situații în care corespondența aceasta nu este respectată. Așa de exemplu, la 10-20% din subiecții (normo- sau hiperlipemici) se constată prezența unei lipoproteine particulare cu migrare în fracțiunea prebeta dar care la ultracentrifugare prezintă o densitate cuprinsă între 1,05-1,1 fiind deci mai apropiată de densitatea particulelor LDL. Această prebetalipoproteină care "se scufundă" (sinking prebeta) este cunoscută sub denumirea de Lp (a) și reprezintă de fapt o particulă LDL care la nivelul apoproteinei B₁₀₀ mai are atașată - prin punți sulfidrice (S-S) - o apoproteină particulară apo (a). Având o structură în mare măsură similară cu plasminogenul, apo (a) și respectiv Lp (a) vădese o mare afinitate față de fibrină, fibronectină și proteoglicani, considerându-se că o astfel de afinitate ar putea explica cel puțin în parte caracterul deosebit de aterogen al acestei lipoproteine (26).

Din catabolismul VLDL rezultă particule cu densitate intermediară între VLDL și LDL. Aceste lipoproteine intermediare (IDL) se află în cantități foarte mici la subiecții normali, fiind rapid captate în receptorii hepatici și îndepărtate din circulație. În hiperlipoproteinemia tip III (disbetalipoproteinemie) apare însă o particulă lipoproteică alcătuită din resturi parțial catabolizate de VLDL și resturi de chilomicroni, care flotează împreună cu VLDL, dar migrează electroforetic cu β lipoproteinele, de unde și denumirea de β -VLDL (beta lată, beta care flotează).

O lipoproteină care apare în cazurile de coleastăz (mai ales extrahepatică) este așa-zisa lipoproteină X (LpX). La electroforeză în agaroză LpX migrează în spatele fracțiunii beta fiind însă aproape lipită de aceasta, iar la electroforeză în agar este singura lipoproteină care migrează spre polul negativ. LpX este alcătuită mai ales din fosfolipide (65%) și colesterol liber (25%) iar componentele proteice sunt reprezentate de un amestec neobișnuit de albumină,

Tabel 1.1.

Compoziția lipoproteinelor izolate de la subiecți normali. Tabel întocmit pe baza datelor din literatură (6,51)

Clasa de lipoproteine	Densitate	Migrare electroforetică în agaroză	Compoziție (valori procentuale)					Natura apoproteinelor	
			Triglice-ride	Colesterol		Fosfolipide	Proteine	Compo-nente majore	Componente minore (urne)
				liber	esteri				
Chilomicroni	0,94 (Sf >400)	origine (nu migrează)	85-90	1-3	2-4	3-6	1-2	B ₄₈ , C-I, C-III, A-I, A-IV, E	A-II, C-II
Lipoproteine cu densitate foarte joasă (VLDL)	0,94-1,006 (Sf 20-400)	prebeta	50-65	4-8	12-22	15-20	6-10	B ₁₀₀ , E, C-I, C-II, C-III	A-I, A-II, A-IV
Lipoproteine cu densitate joasă (LDL)	1,006-1,063	beta	4-8	6-8	45-50	18-24	18-22	B ₁₀₀	Eventual urne de C-I, C-II, C-III, E
Lipoproteine dense (HDL)	1,063-1,21	alfa	2-7	3-5	15-20	26-32	45-55	A-I, A-II	C-I, C-II, C-III, D, E

În timp ce apo A-I și apo A-II rămân în particulele de HDL pe toată durata prezenței acestor lipoproteine în plasmă, apo C-II, C-III și apo E sunt în permanență transferate spre chilomicroni și spre VLDL. n acest fel, deși HDL reprezintă un rezervor de apoproteine C și E, concentrația procentuală a acestor apoproteine în particulele de HDL este relativ joasă.

apoproteină C și mici cantități de apo A-I și apo E.

Formarea acestei lipoproteine este determinată de retenția de colesterol liber și fosfolipidic, ca urmare a opririi fluxului biliar. Apariția LpX survine însă și în deficitul de lecitin: colesterol aciltransferază (LCAT) enzima care asigură esterificarea colesterolului în plasmă (vezi pag. 56).

1.1.2. APOPROTEINELE

Componentele proteice ale lipoproteinelor, denumite apolipoproteine sau mai simplu apoproteine au putut fi izolate, iar în urma preparării de antiseruri pot fi astăzi dozate prin metode imunochimice. Caracteristicile principalelor apoproteine sunt redată în tabelul 1.2. S-a putut preciza că locul de sinteză al apoproteinelor este reprezentat de ficat și intestin iar semnificația lor funcțională poate fi astfel sistematizată.

A. Apoproteinele mențin în soluție lipidele plasmatiche asigurând transportul lor.

B. Unele apoproteine constituie cofactori ai unor reacții enzimatiche implicate în metabolismul lipidelor. Așa de exemplu ApoC-II este un cofactor activator al lipoproteinlipazei (LPL) cu rol în hidroliza trigliceridelor din chilomicroni și VLDL (vezi pag 26) iar apo C-III întârzie această hidroliză prevenind o eliberare prea bruscă de acizi grași liberi din trigliceride. De asemenea apoproteina A-I este un cofactor al reacției de esterificare a colesterolului catalizată de lecitin: colesterol aciltransferază (LCAT) (Vezi pag. 31).

C. O serie de apoproteine ca de exemplu Apo B₁₀₀ în LDL, apo B₄₈ în chilomicroni și apo E în VLDL, IDL, HDL și resturi de chilomicroni reprezintă liganzii, respectiv unitățile prin intermediul cărora receptorii celulari recunosc, captează și internalizează lipoproteinele respective, ducând la îndepărtarea lor din plasmă. Este evident că perturbarea procesului de clearance al lipoproteinelor poate surveni fie din cauza unor defecte ale receptorilor, fie ca urmare a unor mutații care, alterând structura apoproteinelor cu rol de ligand, fac ca lipoproteinele să devină "de nerecunoscut" de către receptori.

Din cele relatate mai sus (vezi și tabel 1.2) apo B se găsește în organism sub două variante: una cu greutate moleculară relativ joasă (apo B_L sau apo B₄₈) aflată în chilomicroni și sintetizată de mucoasa intestinală și o variantă cu greutate moleculară mai mare (apo B_H sau apo B₁₀₀) sintetizată în ficat și încorporată în VLDL, IDL și LDL. Important este faptul că în organism există receptori specializați fie pentru apo B₄₈, fie pentru apo B₁₀₀ (18), iar apo E facilitează și accelerează procesul de captare, atât în cazul particulelor de IDL cât și în cazul resturilor de chilomicroni.

De subliniat că în cursul dezvoltării leziunilor aterosclerotice apo B₁₀₀ se acumulează în plăcile ateromatoase într-un ritm mai accelerat decât colesterolul, acest fapt denotând că apo B₁₀₀ este mai greu depurat din placă decât colesterolul (9). De altfel, nivelul plasmatic crescut de apo B₁₀₀ reprezintă un factor de risc pentru ateroscleroză mai important decât creșterea colesterolemiei (22, 51). S-a mai arătat că atât o alimentație bogată în zaharoză cât și un aport alimentar crescut de lipide saturate și de colesterol stimulează sinteza hepatică de apo B₁₀₀.

D. Există și dovezi privind existența unor proteine cu rol de transfer neenzimatic al lipidelor între diferitele clase de lipoproteine (6).

Așa, de exemplu, **proteina de transfer a esterilor de colesterol** (cholesterol-ester exchange protein, CeEP) are afinitate pentru HDL și caracteristici similare cu apo D. Rolul

Tabel 1.2.

Caracteristici și funcțiuni diferențiate ale apoproteinelor, toate apoproteinele având rol în menținerea structurii și respectiv solubilitatea lipoproteinelor. LCAT - lecitin: colesterol aciltransferază; LPL - lipoproteinlipază. După datele din literatură (6,51).

Apoproteina	Greutate moleculară aproximativă	Concentrație plasmatică medie (mg/dl)	Clase de lipoproteine în care se depistează	Funcția
Apo A I	28300	160	HDL chilomicroni	Cofactor LCAT
Apo A II	17000	35	HDL chilomicroni	Cofactor pentru lipaza hepatică ?
Apo A IV	46000	15	Chilomicroni	?
Apo B ₁₀₀ (B _H)	549000	80	VLDL, IDL, LDL	Ligand prin care LDL și LDL sunt captate de receptorii celulei
Apo B ₄₈ (B _L)	260000	urme	Chilomicroni	Ligand pentru captarea raporturilor de chilomicroni
Apo C I	6300	7	Chilomicroni VLDL, HDL	Slab efect de activare al LCAT
Apo C II	8800	4	VLDL, HDL, Chilomicroni	Cofactor al LPL
Apo C III	8800	13	Chilomicroni VLDL	Limitează acțiunea LPL. Întârzie captarea resturilor de chilomicroni
Apo D (A III) (CeEP)*	35200	6	HDL	Transfer al esterilor de colesterol din HDL spre LDL și VLDL
Apo E	37000	5	Chilomicroni VLDL, HDL	Ligand pentru captarea lipoproteinelor de către receptori celulari

S-au mai descris apoproteinele F, G și H a căror semnificație este incertă.

* CeEP - proteina de transfer a esterilor de colesterol (cholesterol ester exchange protein)

CeEP ar fi acela de a facilita transferul esterilor de colesterol din HDL spre LDL și VLDL. Se consideră că CeEP ar favoriza și transferul din LDL spre VLDL contribuind la formarea unor particule de LDL mai sărace în lipide și deci mai dense (LDL III).

Proteina de transfer a trigliceridelor (TgEP) este înglobată în chilomicroni și în VLDL și ar facilita transferul bidirecțional de trigliceride între LDL și HDL și între LDL și VLDL.

Proteina de transfer a fosfolipidelor (PIEP) ar favoriza transferul de lecitină între HDL și LDL precum și între HDL și VLDL.

Așa cum se va arăta în continuare, depistarea diverselor deficiențe sau anomalii ale apoproteinelor au contribuit în mare măsură la elucidarea mecanismelor de producere a hiperlipoproteinemiei și a unor scăderi condiționate genetic ale diferitelor clase de lipoproteine.

1.1.3. COMPONENTELE LIPIDICE ALE LIPOPROTEINELOR

Dozarea diferențiată a colesterolului, trigliceridelor și fosfolipidelor în diferitele clase de lipoproteine ar implica o prealabilă separare a acestora prin ultracentrifugare preparativă. O oarecare orientare se poate obține prin precipitarea VLDL și LDL fie cu dextran sulfat și $MnCl_2$, fie cu heparină și $MnCl_2$ sau cu fosfotungstic acid de sodiu și $MgCl_2$, dozându-se apoi colesterolul din particulele de HDL rămase în supernatant. Avându-se în vedere că în VLDL concentrația colesterolului este de aproximativ 1/5 din cea a trigliceridelor (exprimate în mg/dl) se poate calcula concentrația colesterolului din LDL în mg/dl conform formulei propuse de Friedewald: $mg/dl \text{ LDL colesterol} = \text{colesterol total} - (\text{HDL colesterol} + \text{Trigliceride}/5)$. S-au elaborat și procedee prin care se precipită selectiv doar LDL (cu un amestec de heparină și citrat de sodiu la pH 6,1). În acest caz $LDL \text{ colesterol} = \text{colesterol total} - \text{colesterol din supernatant}$. Se poate de altfel considera că în marea majoritate a cazurilor o creștere a trigliceridelor coincide cu o creștere a VLDL (și a fracțiunii electroforetice prebeta), pe când o creștere solitară a colesterolului atrage atenția asupra creșterii LDL (și respectiv a fracțiunii electroforetice beta).

În cele ce urmează se vor prezenta caracteristicile și proveniența principalelor componente lipidice ale lipoproteinelor.

1.1.3.1. TRIGLICERIDELE

Trigliceridele sunt esteri ai glicerolului cu acizi grași. Sursa gliceridelor (tri, di sau mono) este fie exogenă din absorbția lipidelor alimentare, fie endogenă, pornindu-se de la glicerol-3-fosfat și acizi grași activați (Acil-CoA). În țesuturi ca ficatul, rinichiul și glanda mamară sau mucoasa intestinală glicerol-3-fosfatul poate fi obținut prin fosforilarea directă a glicerolului, deoarece țesuturile amintite sunt dotate cu glicerokinază. Dacă această enzimă, care catalizează fosforilarea amintită, lipsește sau este în cantitate redusă, ca de exemplu în musculatură sau în țesutul adipos, glicerol-3-fosfatul se obține dintr-un produs intermediar al glicolizei și anume din dihidroxiacetonfosfat (39).

La rândul lor, acizii grași care urmează a fi activați spre acil-CoA sub acțiunea tiokinazei, provin fie din lipidele alimentare, fie prin mobilizarea lor din țesutul adipos, fie prin sinteză endogenă în ficat din acetatul activat (acetil CoA), un produs intermediar provenit atât din metabolismul hidraților de carbon cât și din aminoacizi. Sinteza de trigliceride pe seama hidraților de carbon este deosebit de accentuată în cazul consumului de produse zaharoase (16), ceea ce explică accentuarea anumitor forme de hipertrigliceremie în condițiile unui astfel de regim alimentar. Regimul amintit se asociază și cu o creștere a activității fosfatidat-

fosfohidrolazei hepatice, sub acțiunea căreia are loc eliminarea unui radical fosfat din acidul fosfatidic, rezultând un diglicerid care apoi trece în triglicerid prin incorporarea unui acid gras activat. Astfel de observații sugerează posibilitatea inducerii enzimelor cu rol în sinteza hepatică a trigliceridelor (34).

De subliniat că ficatul și țesutul adipos constituie principalele producătoare de trigliceride, iar între trigliceridele, respectiv acizii grași mobilizați din țesutul adipos și trigliceridele produse în ficat și incorporate în VLDL există un permanent transfer bidirecțional (vezi pag. 21). Principalul rol al trigliceridelor este cel de stocare a energiei în țesutul adipos și de eliberare la nevoie a acizilor grași care vor furniza energie prin catabolizare la nivelul musculaturii (39).

1.1.3.2. FOSFOLIPIDELE

Principalele fosfolipide din organism sunt: 1) fosfatidilcolina (lecitina) alcătuită din glicerol, doi acizi grași, acid fosforic și colina (o bază azotată trimetilată); 2) fosfatidiletanolamina (cefalina) conținând etanolamină în locul colinei; 3) acidul fosfatidic lipsit de baza azotată; 4) fosfatidilserina conținând serină (un aminoacid hidroxilat) în locul bazei azotate; 5) fosfatidilinozitol; 6) lizolecitinele în care glicerolul combinat cu fosforilcolina este esterificat doar cu un acid gras; 7) sfingomielinele, care prin hidroliză eliberează un acid gras, acid fosforic, colină și, spre deosebire de celelalte fosfolipide, conțin sfingozină (un alcool complex aminat) în loc de glicerol (39).

Biosinteza majorității fosfolipidelor decurge oarecum în paralel cu cea a trigliceridelor până la etapa de acid fosfatidic sau de diglicerid. Din acest stadiu, în locul esterificării digliceridului cu un nou acid gras, ca în cazul trigliceridelor, are loc incorporarea grupărilor fosforilcolină, fosforiletanolamină sau fosforilinozitol.

Fosfolipidele plasmaticе, având grupări polare hidrofile, contribuie la menținerea suspensiilor de lipide plasmaticе (Vezi fig. 1.1.). Există dovezi privitoare la existența unor schimburi rapide între fosfolipidele plasmaticе și cele din membrana plăcuțelor sanguine (15) și desigur și de la nivelul altor membrane, principalul rol fiziologic al fosfolipidelor fiind participarea lor la alcătuirea membranelor biologice. Pe de altă parte, eliberarea de acid arahidonic din fosfolipidele membranelor celulare, sub acțiunea fosfolipazei A_2 precum și scindarea fosfatidilinozitolului difosfat sub acțiunea fosfolipazei C se soldează cu formarea unor agenți chimici implicați în fluxul intracelular de calciu și în activarea celulelor. Dezvoltarea acestor aspecte ale metabolismului fosfolipidelor ar depăși însă scopul acestui subcapitol.

1.1.3.3. COLESTEROLUL

Organismul uman conține aproximativ 2 g colesterol/kg greutate corporală, iar aproximativ 1-2% din acest colesterol este zilnic reinnoit. Sursa colesterolului din organism este atât exogenă, din colesterolul alimentar, cât și endogenă, formându-se printr-un proces complex de sinteză care pornește de la acetyl-Co A.

Alimentele cele mai bogate în colesterol sunt cele de origine animală și în special creierul (3 g colesterol/100 g aliment), gălbenușul de ou (1.7 g/100 g, respectiv 0.25 g/ou), rinichii (0.35 g/100 g), ficatul (0.25 g/100 g), untul (0.3 g/100 g) și grăsimea de porc (0.1 g/100 g).

Proporția de colesterol absorbit depinde de cantitatea ingerată și de conținutul în trigliceride al dietei, acestea favorizând absorbția colesterolului. Astfel, în cazul unei ingestii de 300 mg/zi absorbția este de 50% (aproximativ 150 mg), creșterea colesterolului din rația alimentară la 3000 mg se soldează cu o absorbție de 10% (300 mg). Cu alte cuvinte, o

creștere de 10 ori a colesterolului alimentar se soldează doar cu o dublare a colesterolului absorbit.

Așa cum se va vedea ulterior, legătura dintre colesterolul alimentar și nivelul colesterolemiei este însă mult mai complexă și depinde de măsura în care celulele hepatice își reduc numărul de receptori pentru LDL plasmatică, atunci când aceste celule sunt expuse unui aport crescut de colesterol absorbit din alimentație. Cea mai mare parte a colesterolului provine însă din sinteză endogenă (aproximativ 1 g/zi) care are loc aproape în toate țesuturile, cele mai active organe fiind însă ficatul și peretele intestinal (39).

Sinteza colesterolului pornește de la acetil-CoA, iar prin condensarea progresivă a 3 astfel de molecule se ajunge la un compus cu șase atomi de carbon. Acest compus beta-hidroxi-beta-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) trece în mevalonat sub acțiunea enzimei HMG-CoA reductază (enzimă cheie în sinteza de colesterol). Într-o serie de etape ulterioare implicând fosforilări, decarboxilări și condensarea a 6 unități izoprenoide se ajunge la un compus linear numit scuolen. Prin închiderea la mai multe nivele a lanțului de atomi de carbon se formează cele patru inele caracteristice steroizilor (structură ciclopentanoperhidrofenantrenică). Primul astfel de compus este lanosterolul care trecând prin etapele intermediare de zimosterol și de desmosterol ajunge la colesterol.

Este important de precizat că reglarea sintezei de colesterol are loc încă din etapele inițiale și anume la nivelul reacției catalizate de HMG-CoA reductază. Scăderea conținutului de colesterol al celulei hepatice induce sinteza acestei enzime și implicit creșterea producției de colesterol, iar aportul de colesterol și respectiv o creștere a conținutului de colesterol al hepatocitului reprimă sinteza de HMG-CoA reductază.

Pe de altă parte, creșterea conținutului de colesterol al celulei hepatice duce la scăderea receptorilor celulari pentru LDL și invers, sărăcirea hepatocitelor în colesterol induce o creștere a numărului de receptori și implicit o accelerare a captării și internalizării particulelor de LDL din plasmă care vor furniza colesterol celulelor. De fapt, colesterolul sintetizat în ficat este încorporat în lipoproteine mai ales VLDL și LDL și trimis sub această formă țesuturilor care utilizează colesterol pentru formarea membranelor celulare, iar la nivelul suprarenalelor și glandelor sexuale pentru sinteza de hormoni steroizi.

Transportul în revers de la țesuturi spre ficat se efectuează mai ales prin intermediul HDL (Vezi pag.34).

Intrucât organismul nu posedă sisteme enzimatice care să asigure degradarea structurii ciclopentanoperhidrofenantrenice, îndepărtarea colesterolului din organism se efectuează mai ales în ficat prin transformarea lui în acizi biliari care se elimină împreună cu sterolii neutri prin bilă și fecale. O fracțiune mult mai redusă a colesterolului se îndepărtează după transformarea acestuia în hormoni steroizi a căror metaboliți se excretă apoi prin urină (6,8,9,39,51).

1.1.4. MECANISME IMPLICATE ÎN TRANSPORTUL PLASMATIC AL LIPIDELOR

În esență, transportul lipidelor plasmatic se realizează pe următoarele căi:

a. Transportul lipidelor absorbite la nivelul intestinului se realizează sub formă de chilomicroni.

b. Transportul de lipide mobilizate din rezervele țesutului adipos se efectuează sub formă de acizi grași liberi (AGL) fixați pe albuminele serice.

c. Lipidele sintetizate în ficat sunt trimise țesuturilor extrahepatice sub formă de lipoproteine (mai ales VLDL și LDL).

d. Transportul colesterolului de la țesuturile extrahepatice la ficat se realizează printr-un mecanism ce implică lipoproteinele dense (HDL) și enzima lecitin: colesterol acil-transferază (LCAT).

1.1.4.1. TRANSPORTUL SUB FORMĂ DE CHILOMICRONI

Doar aproximativ un sfert din trigliceridele alimentare din tractul digestiv sunt hidrolizate complet până la acizi grași și glicerol sub acțiunea lipazei pancreatice. De fapt, principalii produși de digestie a grăsimilor sunt monogliceridele care sunt total hidrolizate doar după ce au pătruns în celulele mucoasei intestinale. Tot în celulele intestinale are loc o resinteză a trigliceridelor pornindu-se fie de la gliceridele parțiale (mono- și digliceride) fie de la alfa-glicerofosfat care se esterifică cu acizii grași activați (acil-CoA). Acești acizi grași pot proveni și prin mobilizarea din țesutul adipos al subiectului, astfel încât trigliceridele trecute de mucoasa intestinală diferă într-o oarecare măsură de cele alimentare din lumenul intestinal. La trigliceridele astfel sintetizate se adaugă mici cantități de fosfolipide și de colesterol precum și proteine (respectiv apo B₄₈ și în mai mică măsură apo A-I, apo A-II și apo A-IV). Deși reprezintă doar 1-2% din masa particulei de chilomicroni aceste apoproteine sunt esențiale pentru formarea chilomicronilor, iar inhibarea sintezei de proteine cu puromicină duce la oprirea formării chilomicronilor și la acumularea de grăsimi în celulele mucoasei intestinale.

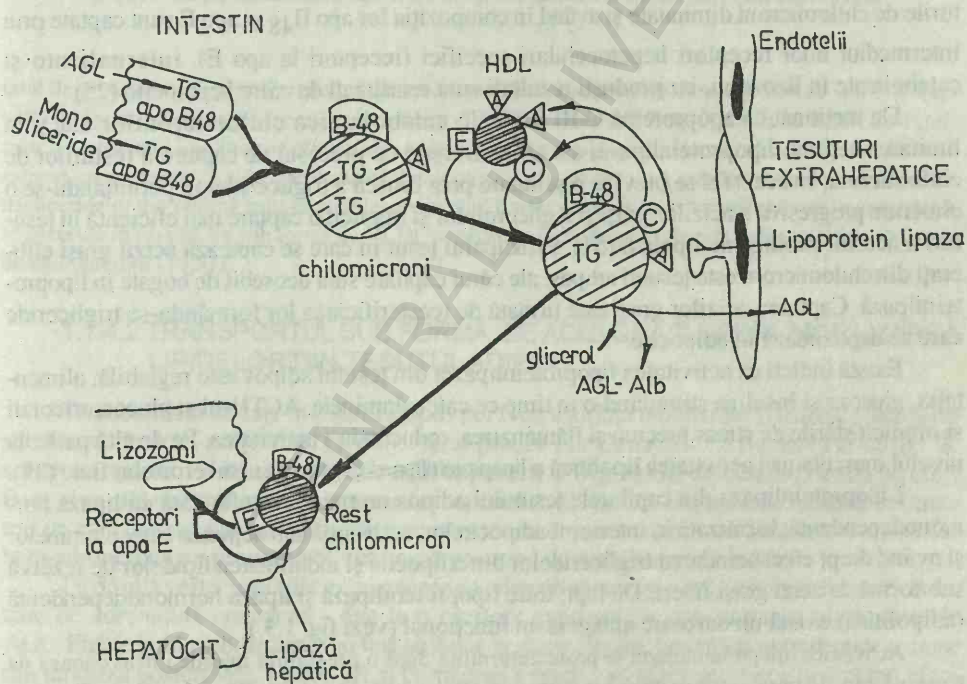


Fig. 1.2. Transportul trigliceridelor de origine alimentară prin formarea și catabolizarea chilomicronilor. De reamarcat transferul de apoproteine C și E din HDL spre chilomicroni, atacul lipolitic exercitat de lipoproteinlipază la nivelul endoteliilor și în cele din urmă captarea și degradarea resturilor de chilomicroni în ficat. Detalii în text.

Chilomicronii "în stare născândă", formați în mucoasa intestinală, trec în vasele limfatice ajungând apoi prin canalul toracic în sânge unde determină un oarecare grad de lactescență postprandială. De notat că acizii grași cu mai puțin de 10 atomi de carbon nu participă la formarea chilomicronilor și se absorb mai ales pe calea sângelui portal (39).

Chilomicronii ajunși în sânge sunt supuși următoarelor procese:

- a. schimburi neenzimatică cu lipidele și mai ales cu apoproteinele din HDL;
- b. hidroliza trigliceridelor sub acțiunea lipoproteinlipazei;
- c. captarea "resturilor" de chilomicroni de către hepatocite prin intermediul unor receptori specifici (receptori apo B₄₈ apo E, cunoscuți și sub termenul de receptori pentru apo E).

Așa cum se vede din fig. 1.2., chilomicronii ajunși în plasmă captează apoproteine C și E provenite din HDL. Apo C-II este un important cofactor al lipoproteinlipazei și potențează activitatea acestei enzime localizată la nivelul endoteliilor vasculare (mai ales capilare). Sub acțiunea lipoproteinlipazei, având drept cofactor apo C-II, are loc hidroliza trigliceridelor și reducerea masei chilomicronilor, iar paralel cu acest proces o bună parte a apoproteinelor A și a apoproteinelor C părăsesc particulele de chilomicroni fiind recaptate în HDL (7). Resturile de chilomicroni, de dimensiuni mult reduse, pătrund în spațiile Disse ajungând apoi în contact cu hepatocitele. La acest nivel are loc un nou atac hidrolitic efectuat de lipaza hepatică care duce la îndepărtarea unei noi cantități de trigliceride și fosfolipide. În cele din urmă resturile de chilomicroni diminuate și având în compoziția lor apo B₄₈ și apo E sunt captate prin intermediul unor receptori hepatocelulari specifici (receptori la apo E), internalizate și catabolizate în lizozomi, iar produșii rezultați sunt reutilizați de către hepatocite (25).

De menționat că apoproteina C-III întârzie catabolizarea chilomicronilor atât prin limitarea acțiunii lipoproteinlipazei cât și interferând cu procesul de captare a resturilor de chilomicroni. În acest fel se previne o scindare prea bruscă a trigliceridelor, permițându-se o eliberare progresivă a acizilor grași și a glicerolului și implicit o captare mai eficientă în țesuturi a acestor produși de lipoliză (51). Principalul țesut în care se captează acizii grași eliberați din chilomicroni este țesutul adipos, ale cărui capilare sunt deosebit de bogate în lipoproteinlipază. Captarea acizilor grași este urmată de reesterificarea lor formându-se trigliceride care se depozitează în adipocite.

Există indicii că activitatea lipoproteinlipazei din țesutul adipos este reglabilă, alimentația, glucoza și insulina stimulând-o în timp ce catecolaminele, ACTH-ul și glucocorticoizii și implicit stările de stress precum și flămânzirea, reducându-i activitatea. Pe de altă parte, la nivelul musculaturii activitatea lipolitică a lipoproteinlipazei crește în cursul efortului fizic (39).

Lipoproteinlipaza din capilarele țesutului adipos nu trebuie confundată cu lipaza hormonodependentă, localizată în interiorul adipocitelor, activabilă sub acțiunea catecolaminelor și având drept efect scindarea trigliceridelor din adipocite și mobilizarea lipidelor de rezervă sub formă de acizi grași liberi. De fapt, între lipoproteinlipază și lipaza hormonodependentă (adipolitică) există un oarecare antagonism funcțional (vezi fig. 1.3.).

Activitatea lipoproteinlipazei se poate determina după o prealabilă injecție intravenoasă de heparină, care desprinde enzima de pe suprafața endoteliilor, unde aceasta se află ancorată prin filamente de proteoglicani. Activitatea enzimei trecute în plasmă se evaluează pe baza eliberării de acizi grași liberi și glicerol dintr-un substrat de trigliceride standard. În realitate această activitate lipolitică postheparinică a plasmăi nu se datorează doar lipoproteinlipazei, ci și altor enzime lipolitice, cum sunt lipaza hepatică și unele fosfolipaze. Spre deosebire de acestea, lipoproteinlipaza este inhibată de către sul-

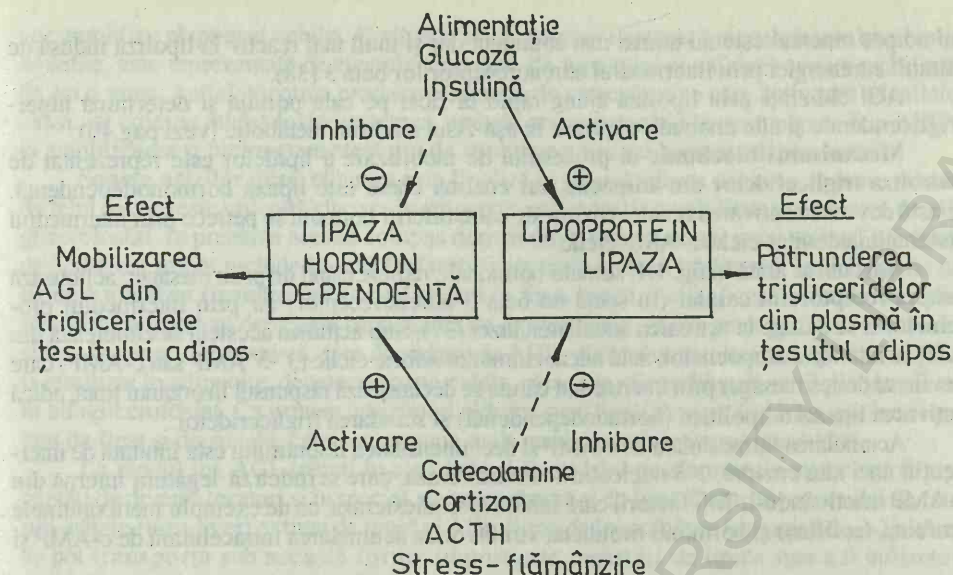


Fig. 1.3. Antagonismul funcțional între lipoproteinlipază și lipaza hormonodependentă.

fatul de protamină. Subiecții cu deficit genetic sever de lipoproteinlipază sau deficit de apo C II dezvoltă o hipertrigliceridemie severă cu creșterea chilomicronilor (HLP-tip I). Deficiențele destul de exprimate ale activității lipolitice postheparinice se întâlnesc în cursul hiperlipidemiei alcoolice, în diabetul zaharat cu acidocetoză și în unele cazuri de hipotiroidism. De notat că mecanismele de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă sunt saturabile, ele putând fi ușor depășite în cazul unei pătrunderi sporite de trigliceride în plasmă fie sub formă de VLDL produse în ficat, fie prin absorbția din intestin sub formă de chilomicroni (10,51).

1.1.4.2. TRANSPORTUL SUB FORMĂ DE ACIZI GRAȘI LIBERI. MOBILIZAREA LIPIDELOR DIN ȚESUTUL ADIPOS

Trigliceridele stocate în țesutul adipos pot fi cu ușurință mobilizate și trimise țesuturilor sub formă de acizi grași liberi (AGL). Acest proces este deosebit de intens în condiții de solicitare sporită, ca de exemplu în cursul expunerii la frig, în caz de flămânzire sau de efort fizic, și se află sub controlul mecanismelor superioare de reglare. Impulsurile centrale se transmit pe calea sistemului simpatic, iar simpatectomia chimică, respectiv blocarea receptorilor beta-adrenergici cu propranolol, limitează procesul de mobilizare a lipidelor.

Pe de altă parte, injecțiile intravenoase de adrenalină sau fumatul - care produce o descărcare de adrenalină endogenă - duc la o creștere exprimată a concentrației plasmatice de AGL. Efecte lipid mobilizatoare au fost atribuite și glucagonului, precum și unor peptide extrase din hipofiza posterioară, iar ACTH și cortizonul exercită un efect permissiv, potențând efectul catecolaminelor (39).

Grăsimea intraabdominală (omentală) este mai susceptibilă la efectul lipidmobilizator al catecolaminelor, decât țesutul adipos subcutanat de pe coapse sau de pe fese (femural și gluteal). De notat că în cazul obezității abdominale (androide) întâlnită mai des la bărbați, țesu-

tul adipos omental este nu numai mai abundent dar și mult mai reactiv la lipoliza indusă de stimuli adrenergici prin intermediul adrenoreceptorilor beta 3 (38).

AGI eliberați prin lipoliză ajung rapid la ficat pe cale portală și determină hipertrigliceridemie și alte anomalii cuprinse în așa-zisul sindrom metabolic (vezi pag.40).

Mecanismul biochimic al procesului de mobilizare a lipidelor este reprezentat de hidroliza trigliceridelor din adipocite, iar enzima cheie este lipaza hormonodependentă. Există dovezi că activarea acestei enzime de către diferiți hormoni se petrece prin intermediul sistemului adenilat-ciclază-AMP ciclic.

Așa cum se arată în fig. 1.4, stinulii hormonal, reprezentând un prim messenger, acționează asupra receptorului celular (în speță un beta 3-adrenoreceptor) iar prin intermediul proteinelor G se ajunge la activarea adenilatciclazei (37). Sub acțiunea acesteia se eliberează din ATP, în interiorul adipocitelor, acid adenozinmonofosforic ciclic ($3'-5'$ AMP sau c-AMP) care devine al doilea messenger prin intermediul căruia se declanșează răspunsul în organul țintă, adică activarea lipazei adipolitice (hormonodependentă) și scindarea trigliceridelor.

Acumularea intracelulară de c-AMP și deci intensitatea răspunsului este limitată de intervenția unei alte enzime, 3-5 nucleotid-fosfodiesteraza, care scindează legătura internă din c-AMP inactivându-l. Toți factorii care inhibă fosfodiesteraza, ca de exemplu metilxantinele (cafeina, teofilina) și hormonii tiroidieni, vor favoriza acumularea intracelulară de c-AMP și

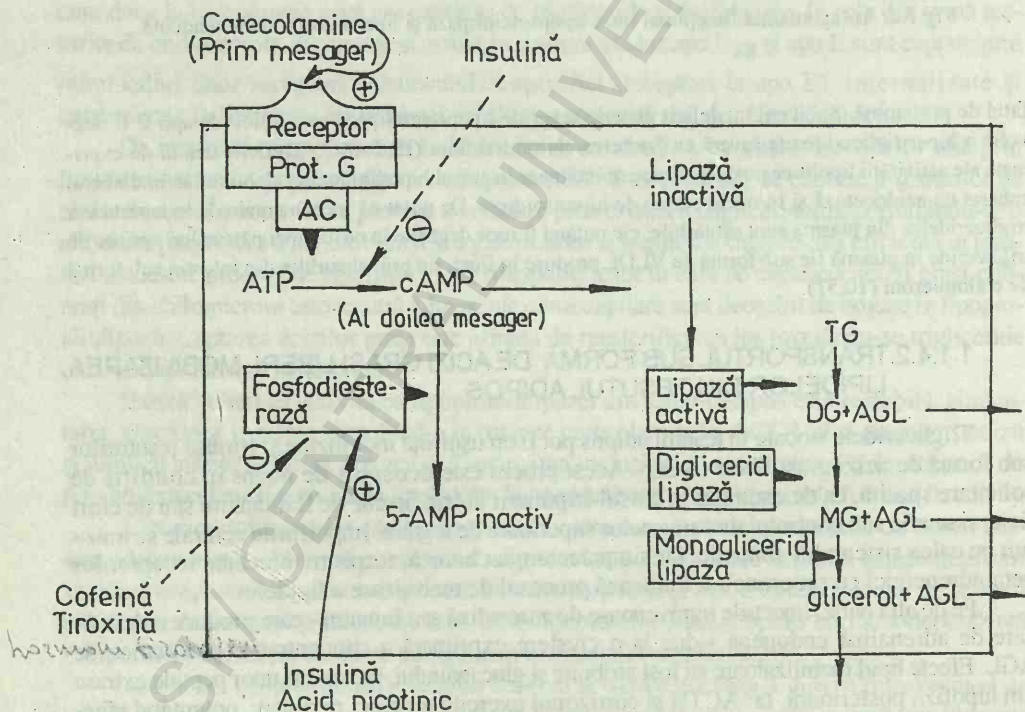


Fig.1.4. Reprezentare simplificată a intervenției sistemului adenilatciclază (AC) - Adenozinmonofosfat ciclic (cAMP) în mobilizarea acizilor grași din trigliceridele țesutului adipos.

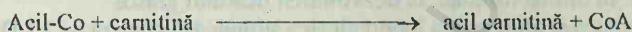
AGL = acizi grași liberi; TG = trigliceride; DG = digliceridă; MG = monoglicerid. Săgeata plină însoțită de ⊕ indică efect stimulator; săgeata întreruptă însoțită de ⊖ arată efect inhibitor.

vor amplifica răspunsul celulei. O situație obișnuită, care ilustrează mecanismele biochimice amintite, este reprezentată de efectele sinergice ale fumatului și cafeinei asupra mobilizării de acizi grași. Astfel, nicotina produce o secreție de catecolamine care activează adenilatciclaza, iar cofeina inhibă fosfodiesteraza, ambele procese ducând la acumularea de c-AMP și la amplificarea și prelungirea efectului de stimulare a lipazei hormonodependente.

Soarta acizilor grași eliberați prin lipoliză în țesutul adipos depinde, în mare măsură, de felul în care este utilizată glucoza în adipocite, respectiv de posibilitatea producerii de alfa-glicerofosfat. În prezența acestui compus derivat din glicoliză, acizii grași activați sub formă de acil-CoA se pot include în acid fosfatidic care trece apoi în triglicerid. În deficite de utilizare a glucozei (inanție sau diabet) și deci în lipsa formării alfa-glicerofosfatului sau dacă intensitatea lipolizei depășește capacitatea de reesterificare, acizii grași părăsesc adipocitele și trec în sânge. De notat că, spre deosebire de AGL, glicerolul rezultat din lipoliză nu poate fi reutilizat în adipocite, deoarece aceste celule, sărace în glicerokinază, nu îl pot transforma în alfa-glicerofosfat. Ca urmare, glicerolul eliberat prin lipoliză trece în sânge, putând fi preluat de ficat și de rinichi, care sunt organe mult mai bogate în glicerokinază (39).

La rândul lor, AGL trecuți în circulație și fixați labil pe albuminele serice vor fi rapid captați de diverse țesuturi și în special, de musculatură și de ficat. Datorită procesului de reîmprospătare (turn-over) extrem de rapid al AGL (timp de înjumătățire biologică de 2-3 minute) se pot transporta sub această formă importante cantități de lipide spre a fi utilizate în scopuri energetice. Așa de exemplu, în caz de flămânzire și expunere la frig, plasma poate transporta până la 500 g grăsimi în decurs de 24 ore (39).

După pătrunderea lor în celule acizii grași sunt activați spre acil CoA, iar pătrunderea acestor forme activate în mitocondrii și respectiv accesul la sistemul enzimatic al beta-oxidării sunt condiționate de formarea unor complexe tranzitorii cu carnitina (beta-hidroxi-gama-trimetilamoniu butirat). Procesul este catalizat de enzima carnitin-palmitil transferază aflată pe suprafața externă a membranei mitocondriale interne (1).



Carnitin-acil
transferază I

După traversarea membranei mitocondriale, carnitina și acil-CoA sunt regenerate conform reacției:



Carnitin-acil
transferază II

Întrucât procesul mai sus amintit are loc mai ales în musculatură (mare consumatoare de AGL și care este deosebit de bogată în carnitină) deprimarea reacției arătate mai sus cauzată fie de un deficit de enzimă, fie de o lipsă de carnitină, se soldează cu o perturbare severă a proceselor de oxidare a acizilor grași, având drept consecință o miopatie caracterizată prin infiltrarea cu trigliceride a musculaturii scheletice. Un oarecare deficit secundar de carnitină a fost semnalat în unele cazuri la pacienții cu insuficiență renală supuși la hemodializă cronică. În rarele cazuri cu deficit genetic de carnitin-aciltransferază fenomenele sunt mai severe, iar infiltrarea cu trigliceride capătă un caracter extins, afectând adeseori miocardul și ficatul și evoluând cu o creștere a trigliceridelor plasmatic. De fapt, acizii grași neutilizați în musculatură ajung în ficat care îi încorporează în trigliceride care sunt secretate apoi sub formă de VLDL realizând o hiperlipoproteinemie tip IV.

O astfel de hipertrigliceridemie poate surveni de altfel și în alte situații, mai frecvent întâlnite, ca de exemplu în cazul unor subiecți cu obezitate androidă (intraabdominală) sedentari și supuși la repetate stări de stress (38). A se vedea Addendum la finele acestui capitol.

1.1.4.3. TRANSPORTUL DE LIPIDE ÎNCORPORATE ÎN LIPOPROTEINE

Transportul de lipide încorporate în lipoproteine include următoarele aspecte: 1) sinteza și secreția lipoproteinelor; 2) modificări suferite de lipoproteinele circulante în plasmă sub acțiunea unor enzime și prin transferul neenzimatic de lipide și apoproteine între diferitele clase de lipoproteine; 3) captarea lipoproteinelor la nivelul unor receptori celulari urmată de internalizarea și degradarea lor; 4) transportul de colesterol de la țesuturile extrahepatice spre ficat în vederea eliminării prin bilă.

1.1.4.3.1. Sinteza și secreția de lipoproteine

Ficatul reprezintă principalul loc de sinteză a lipoproteinelor, la această sinteză contribuind într-o mult mai mică măsură și celulele mucoasei intestinale. Hepatocitele sintetizează mai ales VLDL și HDL, procesul implicând următoarele etape: 1) sinteza componentelor lipidice (trigliceride, fosfolipide, colesterol); 2) sinteza apoproteinelor în reticulul endoplasmatic rugos; 3) formarea legăturilor între apoproteine și componentele lipidice în reticulul endoplasmatic neted; 4) transportul particulelor lipoproteice prin citoplasma hepatocitelor sub formă de vezicule și deversarea acestor particule în torentul circulator.

Secreția de VLDL poate fi perturbată de o serie de factori cum sunt: a) inhibarea sintezei de proteine (prin puromicină, cicloheximidă, actinomycină D); b) interferența cu procesul de cuplare a apoproteinelor cu componentele lipidice (exces de acid orotic, deficit de colină); c) limitarea funcționalității sistemelor microtubulare ale celulei (de exemplu prin colchicină). Toți acești factori pot duce, în ultimă instanță, la dezvoltarea ficatului gras.

Pe de altă parte, obezitatea și alimentația hipercalorică stimulează sinteza de VLDL. O alimentație bogată în glucide rafinate (zaharoză) crește procentul de trigliceride din VLDL, pe când în urma unei alimentații bogate în grăsimi de origine animală și în colesterol, particulele de VLDL vor deveni relativ mai bogate în colesterol și esteri de colesterol (16,25,45). Mecanismele care reglează sinteza de HDL sunt mai puțin bine elucidate.

1.1.4.3.2. Modificări suferite de lipoproteine în plasmă

Modificări suferite de lipoproteinele "născânde", proaspăt secretate în plasmă, pot fi astfel sistematizate: 1) transfer de apoproteine între diversele clase de lipoproteine; 2) hidroliza trigliceridelor din lipoproteine sub acțiunea lipoproteinlipazei și lipazei hepatice; 3) esterificarea colesterolului sub acțiunea lecitin-colesterol aciltransferazei; 4) transferul neenzimatic de colesterol, esteri de colesterol, fosfolipide și chiar de trigliceride între diversele clase de lipoproteine.

Așa cum se vede din fig. 1.5, la scurt timp de la pătrunderea lor în torentul circulator, particulele născânde de VLDL prevăzute doar cu apo B₁₀₀ și unele de apo E, adaugă apoproteine C (C II, C III) și apo E din HDL. Sub acțiunea lipoproteinlipazei având drept cofactor apo C II, conținutul de trigliceride se reduce, în timp ce proporția relativă de colesterol liber și de fosfolipide crește, astfel încât pelicula de la suprafața particulei de VLDL devine mai densă și limitează contactul miezului de trigliceride cu lipoproteinlipaza. Colesterolul și fos-

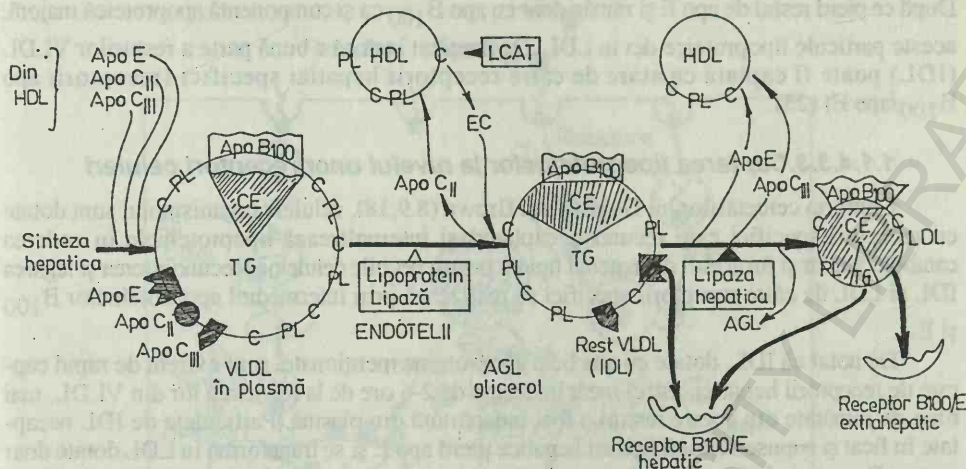
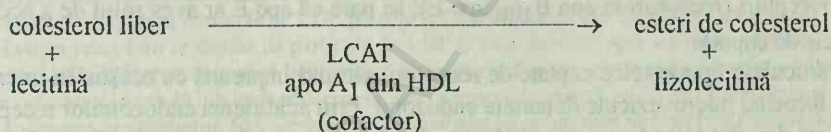


Fig. 1.5. Modificări suferite de VLDL în plasmă. De notat că VLDL "în stare născândă", adică proaspăt secretate de ficat achiziționează apo E și apo C din HDL, iar după ce suferă atacul lipolitic al lipoproteinlipazei și efectele mediate prin intermediul LCAT și HDL, cedează progresiv apo C și apo E înapoi spre HDL, astfel încât LDL rămâne doar cu apo B₁₀₀. De remarcat scăderea progresivă a conținutului de trigliceride și creșterea proporției de esteri de colesterol. Acizii grași eliberați în "cascada delipidării" sunt captați mai ales în țesutul adipos.

folipidele de la suprafața VLDL sunt la rândul lor în bună parte îndepărtate prin intervenția sistemului HDL-LCAT (lecitincolesterol aciltransferază) conform reacției:



Întrucât apo A₁ cofactorul reacției catalizate de LCAT se află în HDL, formarea esterilor de colesterol arătată mai sus are loc în HDL, iar acești esteri hidrofobi se transferă spre miezul particulelor de VLDL și LDL prin intermediul unei proteine de transfer. Pe de altă parte, lizolecitina rezultată sub acțiunea LCAT, este solubilă și părăsește lipoproteina fixându-se pe albumine. Transferul neenzimatic al esterilor de colesterol din HDL spre VLDL se asociază cu un transfer în sens invers a unor cantități variabile de trigliceride și fosfolipide. Ca urmare a proceselor enzimaticate catalizate de lipoproteinlipază și LCAT și prin transferul de lipide mai sus amintite, particulele de VLDL pierd trigliceride, fosfolipide și colesterol liber, crescând însă conținutul lor în esteri de colesterol (6.51).

Paralel are loc o deplasare a unei importante părți a apoproteinelor C și E din VLDL înapoi spre HDL. Rămâne astfel un "rest VLDL" de dimensiuni mult reduce, cunoscut și sub termenul de lipoproteină intermediară (IDL) cu migrare electroforetică mai apropiată de beta- decât de prebeta - și conținând aproape numai apo B₁₀₀ și apo E, precum și urme de apo C-III. Aceste "resturi VLDL" (IDL) pătrund în spațiile Disse, unde în contact cu lipaza hepatică sunt supuse unui nou atac lipolitic care mai îndepărtează din trigliceridele și fosfolipidele rămase.

După ce pierde restul de apo E și rămân doar cu apo B₁₀₀ ca și componentă apoproteică majoră, aceste particule lipoproteice devin LDL. De precizat însă că o bună parte a resturilor VLDL (IDL) poate fi captată ca atare de către receptorii hepatici specifici (receptorii apo B₁₀₀/apo E) (25).

1.1.4.3.3. Captarea lipoproteinelor la nivelul unor receptori celulari

Conform cercetărilor lui Goldstein și Brown (8,9,18), celulele organismului sunt dotate cu receptori specifici care recunosc, captează și internalizează lipoproteinele în vederea catabolizării lor și furnizării de material lipidic pentru nevoile celulelor. Recunoașterea și legarea IDL și LDL de către receptorii specifici se realizează prin intermediul apoproteinelor B₁₀₀ și E.

De notat că IDL, dotate cu ambele apoproteine menționate, sunt extrem de rapid captate de receptorii hepatici, astfel încât în decurs de 2-6 ore de la formarea lor din VLDL, mai bine de jumătate din aceste resturi a fost îndepărtată din plasmă. Particulele de IDL necaptate în ficat și supuse acțiunii lipazei hepatice pierd apo E și se transformă în LDL dotate doar cu apo B₁₀₀ și având o afinitate mai redusă pentru receptori, astfel încât persistă în circulație aproximativ 60 de ore înainte de a fi complet îndepărtate din circulație prin captare în receptori din ficat și din alte țesuturi.

Resturile de chilomicroni prevăzute cu apo E și apo B₄₈ nu sunt recunoscute de receptori care captează IDL și LDL, îndepărtarea lor efectuându-se grație unor receptori diferiți, localizați doar în hepatocite și numiți receptori la apo E.

Rezultă din cele relatate mai sus că lipoproteinele de origine exogenă (resturi de chilomicroni) conținând apo B₄₈ sunt dirijate spre anumiți receptori (receptori de apo E), în timp ce lipoproteinele din surse endogene (resturi VLDL, LDL) dotate cu apo B₁₀₀ se leagă de alți receptori (receptori la apo B₁₀₀/apo E); se pare că apo E ar avea rolul de a accelera procesele de captare.

Particulele lipoproteice captate de receptori pătrund împreună cu aceștia în interiorul celulei formând microvezicule denumite endozomi. Prin acidifierea endozomilor receptorul se desface din complexul cu particula lipoproteică și este reciclat spre suprafața celulei, pe când restul din vezicule conținând particula lipoproteică va fuziona cu lizozomii. În interiorul veziculei nou-constituite, particulele lipoproteice sunt supuse acțiunii unor hidrolaze care descompun apoproteinele până la stadiul de acizi aminați, iar din esterii de colesterol se eliberează colesterol care va fi utilizat pentru elaborarea de noi membrane. La nivelul unor celule specializate, colesterolul extras din LDL îndeplinește și alte roluri: în corticosuprarenale, ovare și testicule este convertit în hormoni steroizi, iar în ficat va fi transformat în acizi biliari.

În general, colesterolul eliberat din LDL într-o celulă este în măsură să moduleze economia colesterolului intracelular prin următoarele procese: 1) reduce sinteza de colesterol a celulei, reprimând sinteza de HMG-CoA reductază, enzima cheie în biosinteza sterolilor; 2) activează enzima acil-CoA-colesterol aciltransferază (ACAT) care reesterifică colesterolul făcând posibilă stocarea sub formă de esterii de colesterol; 3) declanșează un mecanism de feedback negativ oprind elaborarea de noi receptori pentru LDL (Fig. 1.6).

Există dovezi că numărul de receptori apo B₁₀₀/apo E este reglabil în funcție de conținutul în colesterol al celulei. Acest număr crește atunci când nevoile de colesterol ale

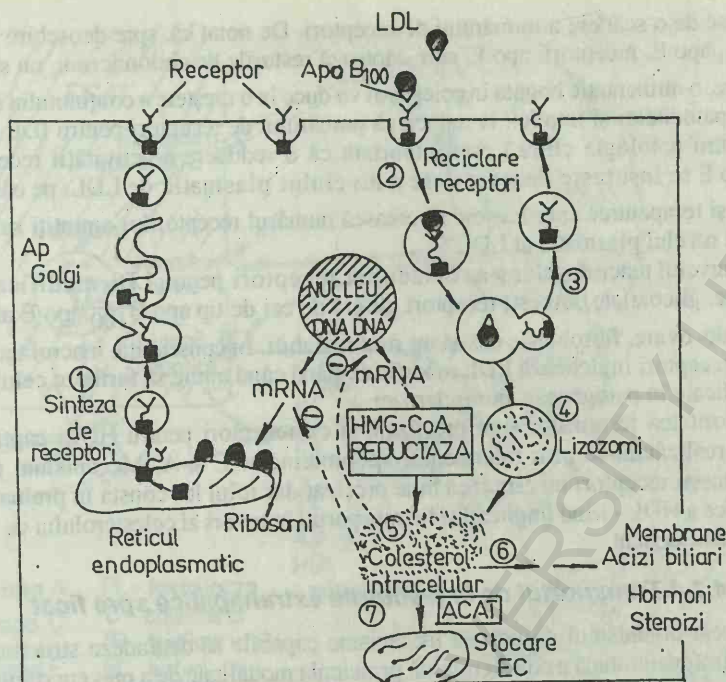


Fig. 1.6. Producția de receptori pentru LDL (receptori apo B₁₀₀/apo E) și reglarea acestora în funcție de conținutul în colesterol al celulelor. 1) Nevoi sporite de colesterol ale celulei induce sinteza de receptori în reticulul endoplasmatic rugos. Aceștia sunt procesați în aparatul Golgi și ajung la suprafața celulei. 2) Receptorii captează particule de LDL pe care le internalizează sub formă de vezicule. În interiorul citoplasmei receptorii se desfac de particula de LDL și sunt reciclați spre suprafața celulei, 3) în timp ce particula de LDL este degradată în lizozomi, 4) "eliberând" colesterol nesterificat în celulă; 5) aportul de colesterol în celulă inhibă producerea de noi receptori și reprimă HMG-CoA reductaza și deci sinteza endogenă de colesterol; 6) Colesterolul furnizat prin receptori este utilizat pentru sinteza de membrane, iar în unele celule specializate, pentru producerea de acizi biliari (ficat) sau de hormoni steroizi (suprarenale, glande sexuale); 7) excesul de colesterol este esterificat sub acțiunea acil-CoA-colesterol acil transferazei (ACAT) și stocat sub formă de esteri (EC).

celulelor cresc, ca de exemplu în cursul diviziunilor, precum și în cazul sporirii producției de acizi biliari sau hormoni steroizi derivați din colesterol. Producția de astfel de receptori crește și în cazul reducerii aportului alimentar de colesterol sau a inhibării enzimei HMG-CoA reductază și implicit a reducerii sintezei endogene de colesterol.

Drenajul biliar repetat, rezecțiile de ileon sau administrarea de colestiramină, care împiedică reabsorbția de acizi biliari, precum și administrarea de hormoni tiroidieni care accelerează transformarea colesterolului în acizi biliari, se asociază de asemenea cu o creștere a numărului de receptori. În esență, toate situațiile menționate mai sus se asociază cu o reducere a conținutului de colesterol al celulei, ceea ce constituie stimulul pentru creșterea producției de receptori apo B₁₀₀/apo E.

Dimpotrivă, creșterea conținutului de colesterol al celulei hepatice, ca de exemplu în cazul unei alimentații bogate în colesterol, infuzia de acizi biliari și deficitul de hormoni tiroidieni

se însoțesc de o scădere a numărului de receptori. De notat că, spre deosebire de receptori apo B₁₀₀/apo E, receptori apo E, care captează resturile de chilomicroni, nu sunt reglabili. Ca urmare, o alimentație bogată în colesterol va duce la o creștere a conținutului în acest compus al hepatocitelor și implicit la reducerea numărului de receptori pentru IDL și LDL.

Pentru patologia clinică este important că o reducere a activității receptorilor apo B₁₀₀/apo E se însoțește de o creștere a nivelului plasmatic de LDL, pe când măsurile dietetice și terapeutice care reușesc să crească numărul receptorilor amintiți sunt în măsură să reducă nivelul plasmatic al LDL.

La nivelul macrofagelor s-au evidențiat receptori pentru LDL modificate (oxidate, malonilate, glicozilate). Acești receptori, diferă de cei de tip apo B₁₀₀/apo E aflați în ficat, suprarenale, ovare, fibroblaste etc. și nu sunt reglabili. În consecință, macrofagele dotate cu astfel de receptori înglobează LDL modificate până când ajung să formeze celule spumoase fiind implicate în patogeneza aterosclerozei.

Majoritatea țesuturilor sunt prevăzute și cu receptori pentru HDL, captarea acestor particule realizându-se prin intermediul apoproteinelor E și A. Mecanismul prin care se reglează acești receptori nu este încă bine precizat dar rolul lor constă în preluarea încărcăturii lipidice a HDL - fiind implicați și în transportul în revers al colesterolului de la țesuturile extrahepatice la ficat.

1.1.4.3.4. Transportul de la țesuturile extrahepatice spre ficat

Întrucât organismul nu posedă mecanisme capabile să degradeze structura ciclopentanoperhidrofenantronică a colesterolului, principala modalitate de a preveni o supraîncărcare cu colesterol constă în eliminarea acestuia prin bilă, fie ca atare, fie mai ales sub formă de acizi biliari. Transformarea colesterolului în hormoni steroizi și eliminarea în urină a metaboliților acestor hormoni constituie o cale de importanță minoră din punct de vedere cantitativ pentru economia colesterolului.

Scoaterea excesului de colesterol din țesuturile extrahepatice și transportul lui spre ficat se realizează printr-un mecanism complex în care intervin HDL, LCAT și proteina de transfer a esterilor de colesterol (vezi fig. 1.7).

Întrucât particulele de HDL recent secretate sunt relativ mai sărace în colesterol și mai bogate în fosfolipide decât membranele celulare, ele vor prelua cu ușurință colesterol de la suprafața celulelor. În felul acesta crește însă raportul colesterol/fosfolipide din HDL, astfel încât capacitatea acestor particule de a mai capta colesterol din membranele celulare este mult mai redusă. Intervenția LCAT, în prezența apo A₁ cu rol de cofactor, transformă însă colesterolul liber din HDL în esteri de colesterol conform reacției arătate anterior (vezi pag 23). Esterii de colesterol astfel formați sunt mai hidrofobi și trec spre miezul particulei de HDL, iar o bună parte din acești esteri este transferată spre VLDL, IDL și LDL prin intermediul unei proteine de transfer. Concomitent, particulele acceptă în schimb trigliceride, fosfolipide și colesterol liber din VLDL și IDL. Ca urmare a acestor procese HDL "născându-se" de formă discooidală trec într-o formă globuloasă mai încărcată cu lipide, notată HDL₂ (densitate 1,063-1,125). Ajunse la nivelul ficatului aceste particule își descarcă din încărcătura lipidică, în speță esteri de colesterol, iar sub acțiunea lipazei hepatice se mai îndepărtează și din trigliceridele (preluate din VLDL). Ca urmare a descărcării sarcinii de lipide, particulele de HDL₂ (densitate 1,063-1,125) trec într-o formă mai densă HDL₃ (densitate 1,125-1,21). De notat că HDL₃ își pot relua funcția de captare a colesterolului liber din membranele celulare și de a facilita transformarea acestuia în esteri de colesterol sub acțiunea LCAT conform celor relatate mai sus. În acest fel par-

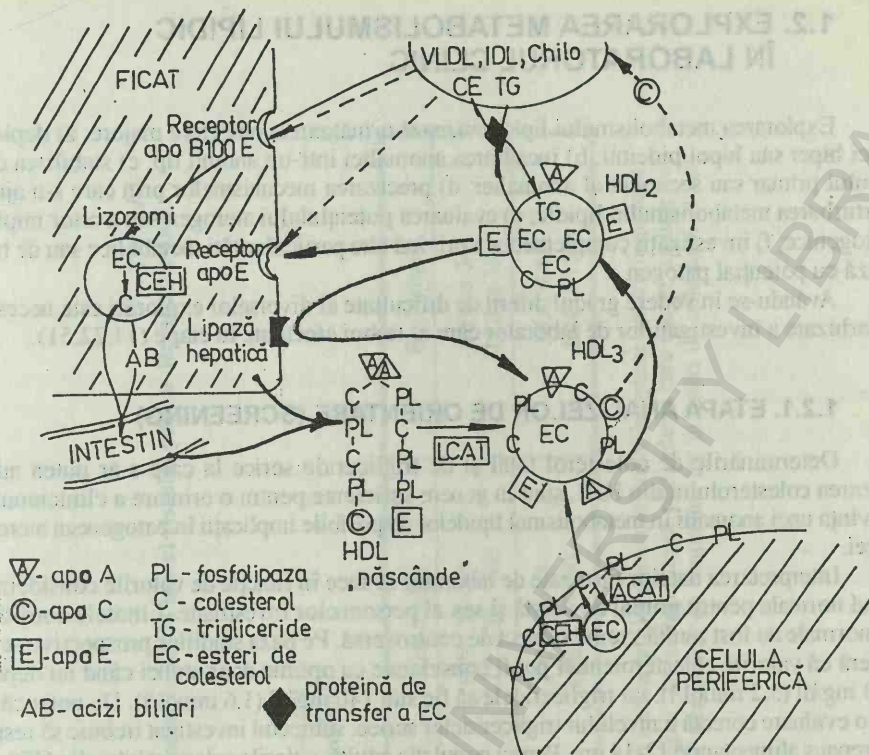


Fig. 1.7. Rolul HDL și LCAT în procesul de transport al colesterolului de la țesuturi spre ficat (transport în revers). Particulele discoidale de HDL "în stare născândă" secretate de ficat și intestin devin sferice în plasmă sub acțiunea LCAT care transformă C în EC, iar lecitina (PL) în lizolecitină; EC trec spre miezul hidrofob al particulei de HDL care astfel mai poate prelua C din membrana celulelor periferice. Îmbogățirea în C și mai apoi în EC (HDL₃ → HDL₂) se însoțește de achiziția de apo E de origine tisulară. Particulele de HDL₂ încărcate cu lipide (mai ales EC) sunt captate în ficat prin receptori la apo E. În lizozomi EC → C sub acțiunea colestesterilhidrolazei (CEH). C se elimină prin bilă ca atare sau după o prealabilă transformare în acizi biliari (AB). Se arată și posibilitatea ca, prin intermediul unei proteine de transfer, o parte din EC să treacă din HDL₂ în VLDL, LDL sau chilomicroni precum și posibilitatea reconvertirii HDL₂ spre HDL₃ sub acțiunea lipazei hepatice și a descărcării sarcinii de lipide din HDL₂ în hepatocite.

ticulele de HDL₃ se încarcă cu lipide, își reduc densitatea și devin HDL₂. După câteva astfel de cicluri particula de HDL (în speță HDL₂) este captată prin intermediul unor receptori din hepatocite fiind apoi internalizată și degradată. Esterii de colesterol descărcați în hepatocite sunt hidrolizați în acizi grași și colesterol, care este transformat, în cea mai mare parte, în acizi biliari, aceștia eliminându-se prin bilă împreună cu fosfolipide și cu o anumită proporție de colesterol liber. Acest transport "în revers" de colesterol de la țesuturi spre ficat are mare importanță pentru prevenirea acumulărilor de colesterol în țesuturi și pentru diminuarea riscului de ateroscleroză (6,39,51).

1.2. EXPLORAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ÎN LABORATORUL CLINIC

Explorarea metabolismului lipidic vizează următoarele obiective majore: a) depistarea unei hiper sau hipolipidemii; b) încadrarea anomaliei într-un anumit tip; c) stabilirea caracterului primar sau secundar al anomaliei; d) precizarea mecanismelor prin care s-a ajuns la perturbarea metabolismului lipidic; e) evaluarea potențialului aterogen sau a altor implicații patologice; f) investigații complementare privind alte particularități metabolice sau de hemostază cu potențial patogen.

Avându-se în vedere gradul diferit de dificultate al diverselor explorări este necesară o ierarhizare a investigațiilor de laborator care ar trebui efectuate în etape (14,22,51).

1.2.1. ETAPA ANALIZELOR DE ORIENTARE (SCREENING)

Determinările de colesterol total și de trigliceride serice la care s-ar putea adăuga dozarea colesterolului din HDL sunt în genere suficiente pentru o orientare a clinicianului în privința unei anomalii în metabolismul lipidelor cu posibile implicații în patogeneza aterosclerozei.

Interpretarea datelor furnizate de laborator se face în funcție de valorile considerate ca fiind normale pentru grupul de vârstă și sex al persoanelor investigate. Limitele considerate ca normale au fost multă vreme subiect de controversă. Pe baza studiilor prospective se consideră că valorile colesterolemiei pot fi considerate ca optime doar atunci când nu depășesc 200 mg/dl (5.2 mmol/l), iar trigliceridele să fie sub 140 mg/dl (1.6 mmol/l). De notat că pentru o evaluare corectă a nivelului trigliceridelor serice, subiectul investigat trebuie să respecte un repaus alimentar de 12-14 ore. Pentru populația adultă, valorile colesterolului din HDL considerate ca fiind în limite normale oscilează între 35-70 mg/dl la bărbați și între 45-85 mg/dl la femei (vezi tab 1.3). Atunci când nivelul trigliceridelor nu depășește 400 mg/dl (4.5 mmol/l) și se pot exclude tipurile III și V de hiperlipoproteinemie se poate calcula colesterolul din LDL conform formulei:

$$\text{LDL colesterol} = \text{colesterol total} - [(\text{Trigliceride}/5) + \text{HDL colesterol}]$$

Reamintim că în cele mai multe cazuri colesterolul din VLDL (în mg/dl) se obține împărțind la 5 valoarea trigliceridelor serice (în mg/dl). Valorile optime ale colesterolului din LDL ar oscila între (70-130 mg/dl). Atunci când se constată o hiperlipidemie se recomandă efectuarea electroforezei în gel de agaroză a lipoproteinelor spre a se preciza care clasă de lipoproteine este anormal crescută. Valorile procentuale considerate ca fiind în limite normale oscilează între 25-35% pentru alfa-lipoproteine, 15-25% pentru fracțiunea prebeta și 45-55% în cazul betalipoproteinelor. Interpretarea corectă a foreogramei lipoproteinelor serice se poate face doar în funcție de valorile trigliceridelor și colesterolului spre a se putea evalua valoarea absolută a diferitelor fracțiuni (în mg/lipide/ fracțiune/dl). O apreciere orientativă a lipidelor totale se poate obține din formula:

$$\text{Lipide totale (mg/dl)} = \text{colesterol total} \times 2.25 + 90 + \text{trigliceride}$$

În tabelul 1.3 se prezintă o schemă cu caracter de orientare privind interpretarea unor explorări de rutină a lipidelor și lipoproteinelor serice în sensul riscului de ateroscleroză coronariană.

Tabel 1.3.

Interpretarea unor parametri ai lipidelor și lipoproteinelor serice în sensul riscului pentru dezvoltarea unei coronaropatii. Valorile sunt prezentate ca mg/dl

1. colesterol < 200
trigliceride < 200 risc scăzut
2. colesterol > 300 risc crescut
3. colesterol 200-300 | risc în funcție de comportarea HDL
trigliceride > 200 | colesterolului și LDL colesterolului

	Risc redus	Risc mediu	Risc crescut
Bărbați	HDL ≥ 55 LDL ≤ 130	HDL 35 - 55 LDL 130 - 160	HDL ≤ 35 LDL ≥ 160
Femei	HDL ≥ 65 LDL ≤ 130	HDL 45 - 65 LDL 130-160	HDL ≤ 45 LDL ≥ 160

Observații: Conform unor date recente din literatură (22) și a observațiilor personale, valorile optime ale trigliceridelor ar trebui să se situeze sub 170 mg/dl și chiar sub 140 mg/dl, iar aterogenitatea particulelor care conțin trigliceride depinde de mărimea particulelor (cele mai mici sunt mai aterogene), de conținutul lor în esteri de colesterol și de compoziția în apoproteine.

1.2.2. ETAPA ANALIZELOR COMPLEMENTARE

Determinarea de rutină a apoproteinelor întâmpină încă dificultăți. Există însă studii care atribuie o mare importanță pentru patogeniza aterosclerozei, scăderii nivelului plasmatic de apo A-I și creșterii apo B₁₀₀. În mod implicit scăderea raportului apo A-I/apo B ar reflecta mai fidel riscul pentru ateroscleroză coronariană, decât determinările de colesterol total, HDL-colesterol, sau de trigliceride (22,51). De asemenea creșterea raportului apo B/colesterol indică prezența de lipoproteine mai dense și de dimensiuni mai reduse cu un accentuat potențial aterogen.

Se acordă de asemenea o deosebită importanță **determinărilor de Lp (a)** care constituie un factor de risc independent, favorizând ateroscleroza chiar în cazul unor valori relativ normale ale colesterolemiei (vezi pag 18).

O contribuție esențială la înțelegerea anomaliilor metabolismului lipidic a fost adusă de studii privind procesele de reîmprospătare (turn-over) ale lipoproteinelor plasmatiche. Astfel de studii efectuate în centre specializate implică o marcare prealabilă "in vitro" cu ¹²⁵I a lipoproteinelor separate prin ultracentrifugare. După injectarea acestor lipoproteine marcate în apo B₁₀₀ se urmărește timpul de înjumătățire biologică a lipoproteinelor radioactive. S-a putut astfel stabili că în hipercolesterolemia familială (tip IIa) timpul de înjumătățire în plasmă a LDL este de 2 ori mai lung decât la normali (9,31).

Pentru marcarea trigliceridelor se injectează i.v. glicerol marcat care se încorporează "in vivo" în trigliceridele din VLDL, urmărindu-se apoi dispariția progresivă a radioactivității plasmei. Urmărirea vitezei de remanieră a colesterolului se bazează pe injectarea de ¹⁴C-colesterol sau ³H-colesterol urmărindu-se apoi scăderea radioactivității plasmatice și apariția radioizotopului în acizii biliari sau în sterolii din bilă și din scaun. Astfel de explorări permit considerații asupra mecanismului de producere al unei hiperlipoproteinemii. De exemplu în cazul unei hiperlipoproteinemii evoluând cu o viteză de îndepărtare redusă (turn-over încetinit) se poate presupune că nivelul crescut al lipoproteinelor este o consecință a deficitului uneia din etapele proceselor de catabolizare sau de captare a lipoproteinelor. Dimpotrivă, dacă în ciuda unei viteze de reîmprospătare normale sau chiar accelerate (T/2 relativ scurt) se constată un oarecare grad de hiperlipemie, se poate afirma că producția excesivă de lipoproteine constituie principalul mecanism patogenic (16,45) (vezi fig. 1.8).

Întrucât astfel de explorări sunt greu de efectuat în practica medicală, merită semnalate observațiile conform cărora stările caracterizate prin accelerarea sintezei hepatice din VLDL (obezitate, sindrom nefrotic) se asociază cu o creștere a activității colinesterazei serice, un indicator fidel al funcției proteosintetice a ficatului.

Creșterea marcată a gama-glutamintransferazei (γ GT) la un subiect cu hiperlipemie atrage atenția asupra alcoolismului cronic, iar dacă există și o creștere evidentă a fosfatazei alcaline și a acizilor biliari, diagnosticul se va orienta spre un proces de colestază (14).

Fără a atinge valorile excesiv de ridicate întâlnite la alcoolici, activitatea γ-GT este adeseori moderat crescută la subiecții hipertrigliceridemici care nu consumă alcool fiind în aceste cazuri o expresie a unei steatoze hepatice și a unei stimulări a sintezei hepatice de proteine și lipoproteine.

O astfel de stimulare a sintezei hepatice de proteine ar putea contribui la explicarea creșterii nivelurilor plasmatice ale unor enzime și proteine implicate în hemostază. De fapt, concentrația plasmatică a unor proteaze serinice dependente de vitamina K (protrombina, factor VII, factor X, Proteina C) precum și nivelul factorului XIII stabilizator al fibrinei, al fibronectinei și a inhibitorilor fibrinolizei sunt mai ridicate la subiecții supraponderali și hipertrigliceridemici decât la subiecții normoponderali și normolipemici (15).

Întrucât hiperlipidemiile (mai ales hipertrigliceridemiile asociate supragreutății) se însoțesc adeseori cu scăderea toleranței la glucoză, cu creșterea rezistenței la efectele insulinei și cu creșterea uricemiei, aceste aspecte ar trebui investigate la subiecții mai sus menționați.

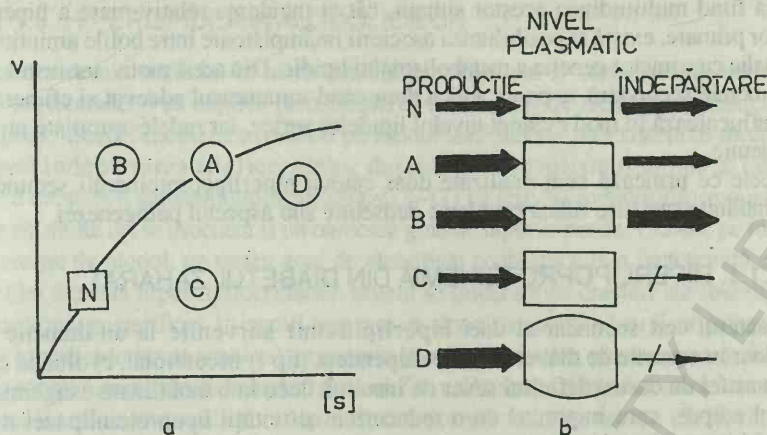


Fig. 1.8. Reprezentarea schematică a diverselor posibilități de instalare a unei hipertrigliceridemii. a) Relația între concentrația trigliceridelor plasmatice (S) pe abscisă și viteza de sinteză a VLDL (V). b) Variate posibilități de asociere între viteza de sinteză a trigliceridelor din VLDL și posibilitățile de îndepărtare a acestora din plasmă.

Întrucât capacitatea de îndepărtare a trigliceridelor este limitată (saturabilă), creșterea vitezei lor de sinteză se însoțește de o concentrație plasmatică crescută în majoritatea cazurilor de hiperlipidemie familială combinată (mai des fenotipurile II b și IV) din grupul A.

Atunci când sinteza accelerată se asociază de o deosebit de eficientă îndepărtare, nivelul trigliceridelor se modifică doar în mică măsură (grupul B incluzând cazuri de obezitate la copil și la femeia tânără, precum și în unele cazuri de hipertiroidism).

Deficitul de îndepărtare (grupul C) predomină în cazuri de hipotiroidism și în unele cazuri de hipertrigliceridemie familială (fenotipurile I, IV sau V).

Asocierea unei sinteze accelerate cu un deficit de îndepărtare (grupul D) se poate întâlni în sindromul nefrotic și în unele anomalii poligenice în metabolismul trigliceridelor.

1.3. ANOMALII ALE METABOLISMULUI LIPIDIC

Atât hiper cât și hipolipoproteinemiiile pot avea un caracter primar sau secundar unor diverse îmbolnăviri. Cunoașterea stărilor patologice care pot duce la dereglări cu caracter secundar ale metabolismului lipidic poate contribui la elucidarea unor mecanisme prin care se poate ajunge la creșteri sau la scăderi ale concentrației plasmatice a lipoproteinelor.

1.3.1. HIPERLIPIDEMII ȘI HIPOLIPIDEMII SECUNDARE

Creșteri ale lipidelor serice pot surveni în condiții extrem de variate cum sunt: diabetul zaharat, alcoolismul, sindromul nefrotic, insuficiență renală cronică, hipotiroidismul, guta, obstrucții ale căilor biliare, utilizarea anticoncepționalelor orale, acromegalia, sindromul Cushing, boala Addison, glicogenozele, unele porfirii, unele hiperimunoglobulinemii monoclonale, unele colagenoze, intoxicația cu vitamina D și chiar unele stări septicice cu germeni Gramm negativi. Terapia cu beta-blocante și cu hidroclorotiazide poate duce și ea la creșteri ale lipidelor serice (10,51).

Data fiind multitudinea acestor situații, cât și incidența relativ mare a hiperlipoproteinemiei primare, există și posibilitatea asocierii întâmplătoare între bolile amintite mai sus și o anomalie cu caracter genetic a metabolismului lipidic. Din acest motiv, termenul de hiperlipoproteinemie secundară se poate aplica doar când tratamentul adecvat și eficient al bolii de bază influențează în mod evident nivelul lipidelor serice, iar rudele apropiate nu prezintă hiperlipidemie.

În cele ce urmează sunt analizate doar câteva hiperlipoproteinemii secundare mai frecvent întâlnite sau care ridică probleme deosebite sub aspectul patogenezei.

1.3.1.1. HIPERLIPOPROTEINEMIA DIN DIABETUL ZAHARAT

Caracterul cert secundar al unei hiperlipidemii survenite la un diabetic poate fi susținut doar în cazurile de diabet insulinodependent (tip I) necontrolat, evoluând cu acido-cetoză. În astfel de cazuri deficitul sever de insulină duce la o mobilizare exagerată a AGL din țesutul adipos, care împreună cu o reducere a activității lipoproteinlipazei duce la o importantă hipertrigliceridemie.

În cazurile de diabet zaharat de tip II (noninsulinodependent) nu se poate stabili o legătură directă între gradul de intoleranță la hidrații de carbon și nivelul lipidelor serice. În astfel de cazuri perturbarea metabolismului lipidic pare a fi mai degrabă o consecință a supragreutății și a unei rezistențe crescute la acțiunea insulinei. Așa cum s-a arătat anterior (vezi pag. 28) țesutul adipos intraabdominal (visceral sau omental) este deosebit de susceptibil la acțiunea catecolaminelor iar în cazurile de obezitate androidă cu o astfel de dispoziție a țesutului adipos se mai adaugă o reactivitate crescută a beta-3 receptorilor adrenergici. Ca urmare, un mai mare flux de AGL ajunge rapid pe cale portală la ficat, unde sunt transformați în trigliceride încorporate în VLDL. Totodată se reduce captarea și inactivarea insulinei în hepatocite, ajungându-se la o creștere a insulinemiei care de asemenea stimulează sinteza de VLDL. Datorită însă creșterii țesutului adipos și a unei rezistențe crescute a țesuturilor periferice față de acțiunea insulinei, se ajunge și la o perturbare a utilizării glucozei. De multe ori astfel de diabetici cu supragreutate sunt și hipertensivi și prezintă hiperuricemie. Astfel de boli asociate descrise de Moga în urmă cu 40 de ani, (43) sunt cunoscute și sub numele de sindrom metabolic (sindrom X sau sindrom Reaven). A se vedea Addendum la finele acestui capitol.

1.3.1.2. HIPERLIPIDEMIA DIN SINDROMUL NEFROTIC

Pierderile urinare de proteine și hipoalbuminemia consecutivă duc la o scădere a presiunii coloidosmotice, ceea ce reprezintă un important stimul pentru sinteza hepatică de proteine și de lipoproteine. Ca urmare, în majoritatea cazurilor de sindrom nefrotic se constată o creștere a colesteroliei și a trigliceridelor serice care este cu atât mai evidentă cu cât proteinuria este mai severă. Hiperlipidemia nefroticilor se asociază de regulă cu o creștere a activității colinesterazei serice, o enzimă secretată de ficat, denotând o accelerare a sintezei hepatice de proteine. De notat că, spre deosebire de albumine, colinesteraza serică având o greutate moleculară de 340.000 nu se pierde prin urină. Remisiunea sindromului nefrotic sau corectarea hipoalbuminemiei prin infuzia de albumină duce la normalizarea spectrului lipidic demonstrându-se astfel caracterul secundar al hiperlipidemiei nefroticilor.

1.3.1.3. HIPERLIPIDEMIA ALCOOLICILOR

Hiperlipidemia întâlnită în unele cazuri de alcoolism și caracterizată mai ales prin creșterea trigliceridelor se explică prin creșterea mobilizării de AGL și încetinirea oxidării acizilor grași, aceste fenomene evoluând pe fondul unui deficit preexistent al mecanismelor care asigură îndepărtarea trigliceridelor din plasmă. Alcoolismul cronic se însoțește de regulă de o creștere a gamaglutamiltransferazei (γ -GT) o enzimă inductibilă produsă în hepatocite, iar de multe ori se asociază și un oarecare grad de hiperuricemie. Uneori, pe fondul unui consum cronic de alcool, un puseu acut de alcoolism poate duce la o lactescență tranzitorie a plasmei, iar aceasta hipertrigliceridemie severă se însoțește de creșteri ale fosfolipidelor și a colesterolului neesterificat. În cazuri mai rare de alcoolism evoluând cu ficat gras (steatoză hepatică) hiperlipidemia se asociază cu anemie hemolitică și icter, precum și cu suferința pancreasului, aceste manifestări alcătuind sindromul Zieve. De notat că instalarea unei ciroze atrofice la un alcoolic duce la o scădere a lipidelor serice sub valorile serice ale normalilor. În aproximativ 20% a cazurilor de pancreatită acută se depistează o hipertrigliceridemie severă care survine de cele mai multe ori în legătură cu un abuz de alcool și de lipide alimentare, adesea pe fondul unui consum cronic de alcool. În patogeniza hipertrigliceridemiei asociată unei pancreatite acute se incriminează și o lipoliză a țesutului adipos peripancreatic ducând la o creștere a fluxului de acizi grași spre ficat. În orice caz, încetarea consumului de alcool și de grăsimi și alimentarea parenterală duc la o scădere rapidă a trigliceridelor și la normalizarea spectrului lipoproteinelor serice (vezi fig. 1.9). De notat că severitatea hipertrigliceridemiei, survenită în cazurile de pancreatită acută depinde de pre existența unui deficit cu caracter familial în procesul de îndepărtare a trigliceridelor.

Există și date conform cărora un consum moderat de alcool ar duce la creșteri ale HDL, cu rol de limitare a aterogenezei. Noțiunea de "consum moderat" este însă insuficient precizată, iar rolul unui astfel de consum în prevenirea aterosclerozei nu este încă pe deplin dovedit.

1.3.1.4. HIPERLIPIDEMIA DIN HIPOTIROIDISM

Hiperlipidemia mixedematoșilor se manifestă de regulă prin creșterea colesterolemiei și, în special, a LDL-colesterolului și se datorează unei reduceri a numărului de receptori pentru IDL și LDL și, implicit, unei încetiniți în procesul de captare și catabolizare a acestor lipoproteine. Totodată este limitată transformarea colesterolului în acizi biliari.

Mobilizarea de AGL din țesutul adipos și sinteza de trigliceride nu sunt crescute fiind mai degrabă diminuate, dar, din cauza unui deficit al mecanismelor de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă (activitatea lipoproteinlipazei și mai ales a lipazei hepatice mult reduse), nivelul trigliceridelor serice poate crește. Caracteristica principală a hiperlipidemiei din hipotiroidism este deci o încetinire a procesului de turn-over al lipoproteinelor. Terapia cu hormoni tiroidieni normalizează spectrul lipoproteinelor plasmatic, fapt care constituie de altfel un test de eficacitate a medicației aplicate (vezi fig. 1.9).

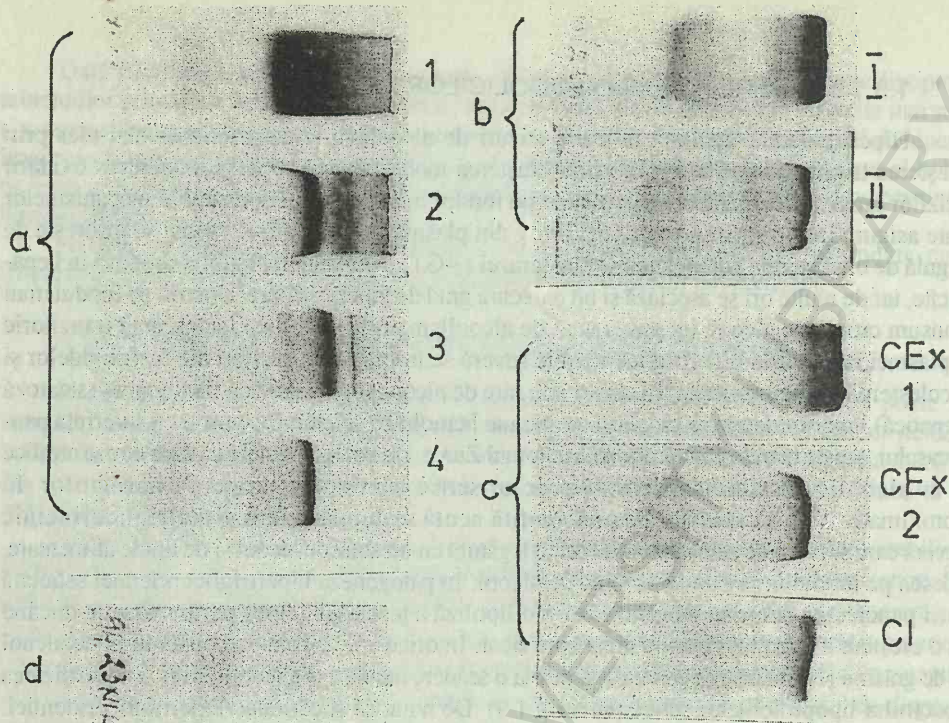


Fig. 1.9. Anomalii cu caracter secundar ale lipoproteinelor serice:

a) Evoluția spectrului lipoproteinelor serice într-un caz de pancreatită acută la un alcoolic: 1) în primele 24 ore trigliceride 40 mmol/l (3500 mg/dl); 2) la 48 ore de la debutul clinic: trigliceride 17 mmol/l (1487 mg/dl); 3) în ziua a 3-a trigliceride 6 mmol/l (525 mg/dl); 4) după 14 zile trigliceride 2 mmol/l (174 mg/dl). Normalizarea tipului HLP V este precedată de aspecte intermediare caracterizate printr-o fracțiune beta lărgită și apariția unei benzi relativ bine delimitată cu migrarea postbeta.

b) Comportarea lipoproteinelor serice într-un caz de hipotiroidism înainte (I) și după trei săptămâni de tratament substitutiv cu hormoni tiroidieni II). Colesterolemia scade de la 360 mg/dl (9,36 mmol/l) la 220 mg/dl (5,72 mmol/l).

c) Anomalii ale lipoproteinelor serice în cursul colestazei CEx 1 - colestază extrahepatică la un bolnav cu carcinom de cap de pancreas. De notat apariția unei fracțiuni cu migrare postbeta (lipită de beta) și care s-a dovedit a fi LpX; CEx 2 - normalizarea lipidogramei la 6 săptămâni de la efectuarea unei anastomoze biliodigestive; Ci colestază intrahepatică (ciroză biliară); de remarcat apariția unei benzi cu migrare postalfa).

d) hipobetalipoproteinemie secundară la un bolnav cu sindrom de malabsorbție survenit în cadrul unui limfom al plăcilor Peyer din intestin.

1.3.1.5. HIPERLIPIDIMIA DIN COLESTAZĂ

Limitarea eliminării prin bilă a colesterolului liber și a fosfolipidelor, în caz de obstrucție a căilor biliare, duce la creșterea acestor lipoizi în plasmă și la formarea unor complexe lipoproteice particulare, cunoscute sub denumirea de lipoproteina X (LpX). La electroforeză în agaroză a lipoproteinelor, LpX migrează înapoia beta-lipoproteinelor, de care se diferențiază însă cu greu, în schimb, la electroforeză în gel de agar, LpX este singura lipoproteină care

migrează spre polul negativ și poate fi evidențiată prin precipitarea în gel sub acțiunea unor polianioni și a unor cationi bivalenți (de exemplu dextran sulfat și CaCl_2). Dozări cantitative de LpX sugerează că nivelul acestei lipoproteine anormale este mai crescut în colestaza extrahepatică (icter mecanic) decât în colestaza intrahepatică. În caz de colestază intrahepatică (de exemplu în colestaza din ciroza biliară) se evidențiază însă o lipoproteină cu migrarea alfa încetinită (vezi fig. 1.9.).

Valoarea diagnostică a lipidelor și lipoproteinelor în sindroamele colestatice este însă redusă în comparație cu creșterile deosebit de exprimate ale acizilor biliari, fosfatazei alcaline și gama-glutamyltransferazei.

1.3.1.6. HIPERLIPIDEMII ASOCIATE HIPERIMUNOGLOBULINEMIILOR

Deși excepțional de rare, hiperlipoproteinemiile asociate unor hiperimmunoglobulinemii (de exemplu în mielomul multiplu și ocazional în colagenoze) prezintă un interes teoretic, denotând posibilitatea intervențiilor proceselor imune în mecanismele care reglează metabolismul lipoproteinelor.

În unele cazuri imunoglobulinele pot afecta funcția lipoproteinlipazei formând complexe fie cu enzima fie cu apo C-II, cofactorul enzimei.

În alte cazuri, imunoglobulinele pot bloca apoproteinele care constituie "unități de recunoaștere" (markeri) prin intermediul cărora receptorii celulari captează și internalizează lipoproteinele. S-au descris astfel două cazuri de mielom multiplu în care imunoglobulinele (într-un caz IgA, iar în altul IgG) au format complexe cu apo B₁₀₀ sau cu apo E ceea ce a dus la o încetinire marcată a vitezei de catabolizare a resturilor de VLDL (IDL) și la creșterea acestor lipoproteine în serul bolnavilor.

1.3.1.7. HIPOLIPIDEMII SECUNDARE

Aceste modificări au o importanță diagnostică redusă. De notat că nou născuții prezintă o hipolipidemie fiziologică, dar valorile colesterolemiei de aproximativ 70 mg/dl (1,8 mmol/l) și respectiv al trigliceridelor în jur de 20 mg/dl (0,23 mmol/l) găsite la naștere cresc brusc în cursul primei săptămâni de viață, iar la aproximativ 4 luni se stabilesc în jurul mediei pentru grupa de vârstă de până la 9 ani (150 mg/dl pentru colesterol și 60 mg/dl pentru trigliceride).

Hipertiroidismul sever evoluează cu o scădere a colesterolemiei și a beta-lipoproteinelor datorită accelerării procesului de captare și degradare a particulelor de LDL precum și prin favorizarea transformării colesterolului în acizii biliari; caracteristică este intensificarea procesului de reîmprospătare (turn-over) a lipoproteinelor.

Scăderea sintezei de lipoproteine se întâlnește în **denutriția cronică**, în sindroamele de malabsorbție, în **anemii severe** și bineînțeles în **insuficiența hepatică avansată**. În cirozele decompensate scade și procentul de colesterol esterificat datorită cel puțin în parte deficitului de LCAT, enzimă secretată de ficat și responsabilă de esterificarea colesterolului în plasmă. Problema comportării lipidelor și lipoproteinelor serice în afecțiunile hepatice este însă mult mai complexă. Așa de exemplu, bolile hepatice evoluând cu colestază exprimată pot evolua cu hipercolesterolemie (vezi pag. 42) iar perturbarea sintezei unor apoproteine poate afecta procesele de clearance și de captare intracelulară a lipoproteinelor. Ilustrativă în acest sens este comportarea lipoproteinelor serice în cursul **terapiilor cu L-asparaginază a leucemiilor**, când se ajunge la o reducere marcată a sintezei hepatice de proteine (13). Se produce o scădere marcată a colesterolemiei (adeseori sub 100 mg/dl) și a fracțiunii electroforetice alfa, în timp ce fracțiunile prebeta și beta își pierd structura și se întind ca o trenă spre locul de aplicare a serului (aspect datorat probabil scăderii raportului între lipide și apoproteine). Scăderea apoproteinei

C-II ar putea astfel explica creșterile trecătoare de trigliceride observate, uneori, în cursul terapiei cu L-asparaginază, ca și în unele cazuri de hepatită acută.

Un mecanism patogenetic particular este reprezentat de hipolipidemia survenită la bolnavii cu leucemia acută mieloblastică. În astfel de cazuri s-a incriminat o captare accelerată a LDL la nivelul receptorilor de pe suprafața mieloblastelor, fenomen pus în legătură cu o creștere a utilizării colesterolului pentru formarea membranelor acestor celule în plină proliferare (12, 56).

1.3.2. DEREGLĂRI CU CARACTER PRIMAR ÎN METABOLISMUL LIPOPROTEINELOR

Deși astfel de anomalii sunt cauzate de mutații, afectând receptori celulari, apoproteinele sau enzimele implicate în metabolismul lipidic, factorii genetici nu pot explica în totalitate aspectele clinice și de laborator depistate, iar, în multe cazuri, factorii de mediu (alimentație, mod de viață) contribuie în mare măsură la dezvoltarea acestor aspecte.

O clasificare ideală a anomaliilor afectând lipoproteinele serice ar trebui să se bazeze pe cunoașterea defectului molecular care stă la baza respectivei anomalii. De fapt, progresele realizate în ultimii ani au creat premisele unei astfel de clasificări. Înainte de a încerca o clasificare patogenetică, este util de a prezenta clasificarea propusă de Fredrickson, Levy și Lees (19) și care este încetățenită în laboratoarele clinice, fiind bazată pe evaluarea creșterii unei anumite fracțiuni electroforetice a lipoproteinelor serice (vezi fig. 1.10). De notat că diversele mutații se pot solda fie cu hiperlipoproteinemii, fie cu scăderi patologice ale anumitor lipoproteine.

1.3.2.1. HIPERLIPOPROTEINEMII CU CARACTER FAMILIAL

1.3.2.1.1. Creșterea chilomicronilor (HLP tip I)

Anomalia se caracterizează prin creșterea excesivă a trigliceridelor serice (de regulă peste 1000 mg/dl, respectiv peste 11 mmol/l) în timp ce colesterolemia prezintă valori variate putând fi chiar normală. Electroforeza lipoproteinelor serice evidențiază creșterea chilomicronilor, iar plasma răcită la +4°C și centrifugată se smântânește formând un strat superior de chilomicroni, infranatantul rămânând clar.

Mecanismul de producere este reprezentat de o perturbare a proceselor care asigură îndepărtarea trigliceridelor din plasmă după absorbția lor din intestin, iar defectul molecular constă fie într-un deficit genetic de lipoproteinlipază, fie printr-un deficit de apo C-II (cofactorul lipoproteinlipazei).

Anomalia se transmite printr-un mecanism autosomal recesiv, manifestările clinice și de laborator apărând doar la homozigoți. Ca urmare, acest tip de hiperlipoproteinemie survine destul de rar.

Hiperchilomicronemia nu este aterogenă, dar subiecții afectați pot prezenta atacuri de pancreatită acută și dureri abdominale survenite la o vârstă tânără. În unele cazuri survin și xantoame eruptive (mici noduli galbeni pruriginoși pe tegumente), hepatosplenomegalie și impregnarea cu lipide a retinei (lipemia retinalis). Hipertrigliceridemia și fenomenele asociate se ameliorează în urma restrângerii lipidelor alimentare la 10-20 g/zi (51).

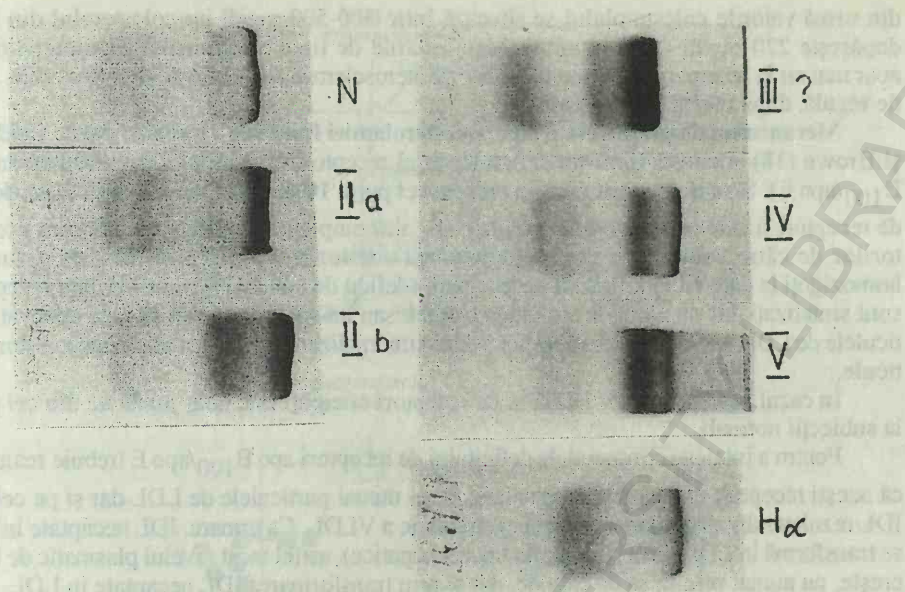


Fig.1.10. Aspectul electroforezei lipoproteinelor serice în diverse tipuri de hiperlipoproteinemie: N - subiect normal (colesterol 176 mg/dl; trigliceride 116 mg/dl); tip IIa heterozigot (colesterol 386 mg/dl; trigliceride 134 mg/dl); tip IIb (colesterol 340 mg/dl; trigliceride 286 mg/dl); tip III - beta lată (colesterol 536 mg/dl, trigliceride 398 mg/dl) - confirmarea diagnosticului de disbetalipoproteinemie necesită dozarea colesterolului din beta VLDL raportul colesterol/trigliceride din această fracțiune fiind mai mare de 0,30 pe când în VLDL de la subiecți normali, sau cu tip II b/IV este sub 0,25; tip IV (colesterol 266 mg/dl, trigliceride 400 mg/dl); tip V (colesterol 360 mg/dl, trigliceride 1080 mg/dl). Se prezintă și un aspect (H-alfa) depistat incidental la un subiect clinic sănătos în vârstă de 60 ani, care prezenta o creștere pronunțată a alfa-lipoproteinelor (HDL colesterol 97 mg/dl).

1.3.2.1.2. Creșterea beta-lipoproteinelor (HLP tip II a)

Majoritatea subiecților prezentând acest fenotip, caracterizat prin creșterea izolată a colesterolului din LDL (și implicit a beta-lipoproteinelor) și valori relativ normale ale trigliceridelor și respectiv ale VLDL (prebeta) se încadrează în **hipercolesterolemia familială**, o entitate nozologică relativ bine definită sub aspect patogenic. Datorită creșterii disproporționat de mari a colesterolului față de trigliceride, raportul colesterol (mg/dl)/trigliceride (mg/dl) este mai mare ca 2.2. Transmiterea anomaliei se face după un mecanism autosomal dominant, iar homozigoții prezintă creșteri extrem de mari ale colesterolemiei care ajunge la valori de peste 600 mg/dl (15,54 mmol/l), iar dezvoltarea leziunilor aterosclerotice asociate cu fenomene clinice severe care merg până la infarct miocardic, survine de multe ori înaintea vârstei de 20 de ani. Se produc totodată infiltrații cu colesterol în piele și tendoane, constituind așa-zisele xantoame planare sau tuberoase pe genunchi, fese și coate precum și xantoamele tendinoase localizate mai ales pe tendonul lui Achile. Incidența stării de homozigot este însă extrem de rară (1 la 1 milion), pe când incidența heterozigoților este de 1 la 500 persoane. La aceștia

din urmă valorile colesterolului se situează între 300-500 mg/dl iar colesterolul din LDL depășește 220 mg/dl (5.72 mmol/l). Manifestările de tipul xantoamelor tuberotendinoase apar mai rar la heterozigoți iar manifestările de ateroscleroză coronariană, deși frecvente, apar de regulă, după vârsta de 40 de ani.

Mecanismul de producere a hipercolesterolemiei familiale a fost elucidat de Goldstein și Brown (18) și constă dintr-un deficit sever al receptorilor pentru LDL (receptori la apo B₁₀₀/apo E). S-au descoperit până în prezent cel puțin 10 mutații care pot duce la un deficit de receptori și care pot surveni în diferite etape ale complexului proces de elaborare a receptorilor de către celulă, sau în funcționalitatea acestor receptori. S-au descris cazuri de homozigoți la care receptorii sunt nedecelabili (deficit de sinteză) și cazuri la care receptorii sunt sintetizați dar nu ajung la suprafața celulei, sau nu sunt în măsură să lege adecvat particulele de LDL, iar în alte cazuri nu pot asigura internalizarea și deci catabolizarea acestor particule.

În cazul heterozigoților numărul de receptori eficienți este doar jumătate din cel găsit la subiecții normali.

Pentru a înțelege consecințele deficitului de receptori apo B₁₀₀/apo E trebuie reamintit că acești receptori captează și internalizează nu numai particulele de LDL dar și pe cele de IDL rezultate din degradarea parțială în circulație a VLDL. Ca urmare, IDL necaptate în ficat se transformă în LDL (prin intervenția lipazei hepatice), astfel încât nivelul plasmatic de LDL crește, nu numai prin lipsa de captare, dar și prin transformarea IDL necaptate în LDL.

Datorită scăderii aportului de colesterol spre celulele țesuturilor extrahepatice, care este furnizat în mod normal prin captarea LDL, se dereprimă enzima HMG-CoA reductază și se accelerează sinteza de colesterol endogen în aceste celule. Excesul de colesterol din celulele amintite activează enzima acil-CoA-colesterol aciltransferază (ACAT), ceea ce duce la formarea esterilor de colesterol care se acumulează în țesuturile extrahepatice. De menționat că activarea HMG-CoA-reductazei și a ACAT nu are loc în hepatocite, deoarece aceste celule (ca și cele intestinale) își reglează sinteza de colesterol și în funcție de aportul alimentar de colesterol, iar receptorii pentru resturile de chilomicroni (receptori la apo E) nu sunt afectați în hipercolesterolemia familială (8,9,18).

Recent, s-au depistat și cazuri cu hipercolesterolemie familială în care numărul și eficiența receptorilor apo B₁₀₀/apo E sunt normale, dar la care a survenit o mutație în apoproteina B₁₀₀ (3500 Arg → Gln). Ca urmare, particulele de IDL și de LDL nu mai sunt recunoscute de către receptorii normali și se acumulează în plasmă (55).

Rezumând mecanismele amintite, se poate afirma că în hipercolesterolemia familială sinteza hepatică de colesterol și de VLDL decurge normal, după cum normală este și catabolizarea parțială a particulelor de VLDL până la stadiul de IDL. Din cauza deficitului de receptori sau a mutației survenite în apo B₁₀₀, particulele de IDL nu sunt captate în suficientă măsură în ficat și se transformă în LDL, nefiind nici ele captate de receptorii apo B₁₀₀/apo E din ficat și din țesuturile extrahepatice. De fapt, cercetări efectuate cu LDL marcate cu izotopi radioactivi și injectate intravenos au arătat că particulele amintite persistă în circulația subiectului cu hipercolesterolemie familială un timp de 2-3 ori mai prelungit decât la subiecții sănătoși. În cele din urmă, particulele de LDL sunt îndepărtate și la bolnavii cu anomalia mai sus menționată, datorită unor mecanisme independente de receptorii specifici și evident mai puțin eficiente. Un astfel de mecanism este captarea LDL în macrofage, mai ales după ce ele au suferit anumite modificări structurale (vezi pag.34).

La heterozigoți, care constituie majoritatea subiecților cu acest tip de hiperlipoproteinemie și la care numărul sau eficiența receptorilor este de aproximativ jumătate din cel întâlnit la

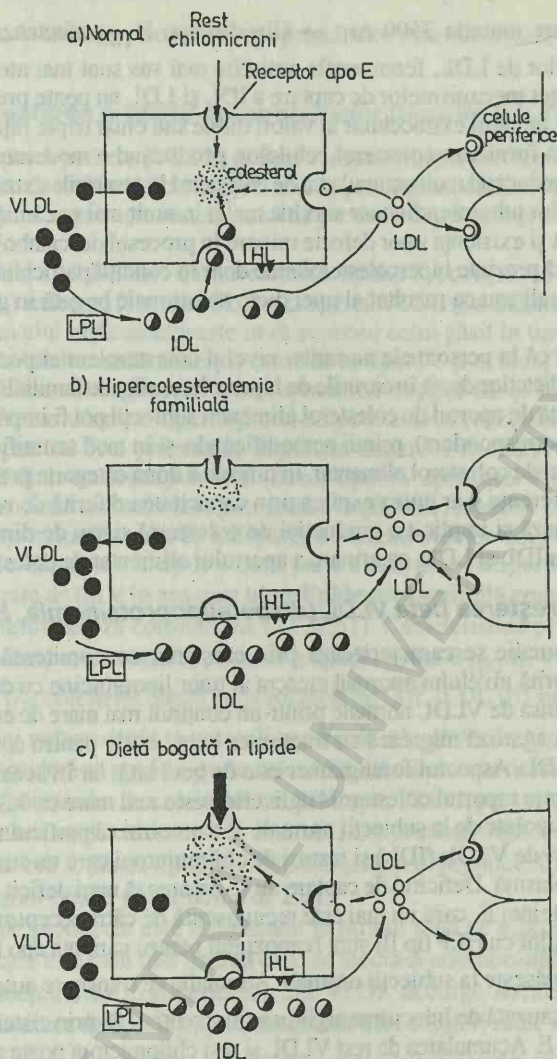


Fig.1.11. Rolul deficitului genetic sau câștigat de receptori față de LDL în determinarea hipercolesterolemiei. Adaptare după datele din literatură (8,9)

a) la normali VLDL secretate de ficat sunt convertite în IDL sub acțiunea lipoproteinlipazei (LPL), iar o bună parte a acestor particule este captată rapid de receptori apo B₁₀₀/apo E din ficat. Restul particulelor de IDL se transformă în LDL sub acțiunea lipazei hepatice (HL) fiind ulterior captate cu ceva mai lent în aceiași receptori din ficat și din alte țesuturi. Se poate de asemenea vedea că aportul de colesterol spre hepatocite depinde nu numai de captarea de IDL și LDL dar și de colesterolul din resturile de chilomicroni captați în receptori la apo E din ficat.

b) în hipercolesterolemia familială, deficitul genetic de receptori apo B₁₀₀/apo E, limitează captarea IDL care se transformă în LDL și care, nefiind nici ele captate, se acumulează în plasmă.

c) dieta bogată în colesterol poate duce de asemenea la o diminuare a receptorilor hepatici pentru IDL și LDL, reglarea acestor receptori depinzând de conținutul în colesterol al hepatocitelor, crescut în astfel de cazuri, prin captarea resturilor de chilomicroni conținând colesterol.

normali sau la care mutația 3500 Arg → Gln din apo B₁₀₀ afectează doar jumătate din numărul particulelor de LDL, fenomenele amintite mai sus sunt mai atenuate. Reducerea la jumătate a eficienței mecanismelor de captare a IDL și LDL nu poate preveni creșterea acestor lipoproteine în lichidul extracelular la valori duble sau chiar triple față de normal, dar este totuși în măsură să furnizeze colesterol celulelor, producând o moderare a activității HMG-CoA reductazei și reducând mult acumularea de colesterol în țesuturile extrahepatice. Ca urmare, apariția xantoamelor tubero-tendinoase survine rar, și în mult mai mică măsură la heterozigoți.

S-a semnalat și existența unor defecte minore în procesul de catabolizare al LDL. Astfel de subiecți ajung să prezinte hipercolesterolemie doar în condiții particulare, de exemplu, dacă devin supraponderali sau ca rezultat al unei diete neraționale bogată în grăsimi saturate și în colesterol.

Este evident că la persoanele amintite, nivelul colesterolemiei poate fi mai ușor redus prin măsuri igienodietetice decât în cazurile de hipercolesterolemie familială. De altfel, în funcție de comportarea față de aportul de colesterol alimentar subiecții pot fi împărțiți în non- și hiper-reactivi (non-, hyperresponders), primii nemodificându-și în mod semnificativ colesterolemia la un adaos moderat de colesterol alimentar, în timp ce a doua categorie prezintă creșteri importante. Astfel de diferențe s-ar putea explica prin capacitatea diferită de represie a sintezei de HMG-CoA reductază și implicit a producției de colesterol și/sau de diminuare a numărului de receptori pentru IDL și LDL, ca urmare a aportului alimentar de colesterol (vezi fig. 1.11).

1.3.2.1.3. Creșterea beta VLDL (disbetalipoproteinemia, HLP tip III).

Această anomalie se caracterizează prin creșterea concomitentă a trigliceridelor și colesterolului datorită nivelului anormal crescut al unor lipoproteine cu densitate foarte joasă care se deosebesc însă de VLDL normale printr-un conținut mai mare de colesterol, iar la electroforeză în gel de agaroză migrează cu fracțiunea beta, motiv pentru care li s-a atribuit termenul de beta-VLDL. Aspectul foreogramei este de beta lată, iar în această fracțiune izolată prin ultracentrifugare raportul colesterol/trigliceride este mai mare ca 0,30, acest raport fiind sub 0,25 în VLDL izolate de la subiecții normali. S-a precizat că particula de beta-VLDL este alcătuită din resturi de VLDL (IDL) și resturi de chilomicroni care nu sunt captate eficient și se acumulează în plasmă. Deficitul de captare nu se datorează unui deficit de receptori, ci unei anomalii a apoproteinei E, care nu mai este recunoscută de către receptorii normali. De fapt, majoritatea subiecților cu HLP tip III sunt homozigoți pentru varianta apo E₂ (E₂/E₂), pe când varianta E₃/E₃ se găsește la subiecții normali. Anomalia se transmite autosomal recesiv, este relativ rară și este cauzată de înlocuirea argininei din poziția 158 prin cisteină (158Arg → Cys) în molecula de apo E. Acumularea de rest VLDL și rest chilomicroni poate surveni și în cazurile și mai rare de deficit total de apo E sau în deficite ale lipazei hepatice.

Subiecții cu HLP tip III prezintă risc crescut pentru apariția precoce a manifestărilor clinice ale aterosclerozei. Adeseori acești subiecți sunt supraponderali, hiperuricemici și prezintă o toleranță scăzută la testul de încărcare cu glucoză. Se constată o mare tendință la dezvoltarea xantoamelor tuberoeruptive și palmare. Toate manifestările descrise mai sus apar, de regulă, la vârsta adultă și sunt favorizate de factori de mediu cum sunt obezitatea, alimentația hipercalorică și consumul de alcool. Se poate presupune că în aceste cazuri survine o sinteză accelerată de VLDL, care sunt relativ normal prelucrate în circulație până la stadiul de IDL al căror catabolism este însă blocat din cauza anomaliei apoproteinei E. Pe de altă parte, un regim igienodietetic adecvat, care duce la slăbire, se însoțește de o ameliorare evidentă a hiperlipidemie. Astfel de observații atrag atenția că și în cazul unor deficite

genetice dezvoltarea evidentă a anomaliei lipoproteinelor este favorizată de anumiți factori de mediu (56).

1.3.2.1.4. Creșterea prebeta-lipoproteinelor (tipurile II b, IV și V)

Creșterea fracțiunii prebeta (VLDL) și deci a trigliceridelor survine foarte frecvent, dar această anomalie este deosebit de heterogenă, atât în privința aspectelor realizate de spectrul lipidelor serice cât și în ce privește mecanismul de producere, precum și a riscului de apariție a aterosclerozei.

Creșterea izolată a VLDL este caracteristică tipului IV, creșterea VLDL și LDL (de regulă $LDL > VLDL$) realizează fenotipul IIb, iar creșterea VLDL și a chilomicronilor corespunde cu tipul V când și nivelul trigliceridelor este mult superior celui găsit în tipurile II b și IV.

Colesterolemia este normală sau ușor crescută în tipul IV și evident crescută în tipurile IIb și V. Raportul colesterol/trigliceride este supraunitar în tipul IIb și subunitar în tipul IV și mai ales în tipul V evoluând cu hipertrigliceridemie excesivă (vezi tab. 1.4 și tab.1.5).

Aceste fenotipuri au fost prezentate împreună deoarece în multe cazuri se constată posibilitatea trecerii dintr-un fenotip în altul (de ex. tipul IV spre tipul V și invers) în funcție de felul în care se asociază mecanismele patogenice implicate, respectiv creșterea sintezei de VLDL și insuficiența mecanismelor de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă.

Există astăzi tendința de a include o bună parte a cazurilor cu tipurile II b și IV precum și unele cazuri mai rare de tip V în așa-zisa **hyperlipidemie familială combinată** care se asociază frecvent cu ateroscleroza coronariană (22,32,51). Caracteristică pentru această formă de hiperlipoproteinemie este creșterea relativă a apoproteinei B_{100} în VLDL și LDL astfel încât raportul apo B_{100} /colesterol crește iar particulele de LDL (LDL III) sunt relativ mai dense și de dimensiuni mai reduse decât la normali sau decât cele găsite în hipercolesterolemia familială (33). Se consideră că apariția particulelor LDL III relativ mai dense se datorează transferului necenzimatic al esterilor de colesterol din LDL spre VLDL, proces mediat de către proteina de transfer a esterilor de colesterol. În schimb, LDL primesc trigliceride din VLDL care sunt apoi hidrolizate sub acțiunea lipoproteinlipazei și lipazei hepatice. Ca urmare, se reduce încărcătura de material lipidic pe particula de LDL.

Mecanismul de producere este reprezentat în primul rând de o accelerare a sintezei și secreției de VLDL care este mult mai intensă când se asociază unei obezități androide. În multe astfel de cazuri îndepărtarea trigliceridelor din VLDL decurge normal, așa încât hiperlipoproteinemia (cu exces de apo B_{100}) se datorează unei creșteri reale a numărului de particule lipoproteice conținând apo B_{100} și nu doar unei supraîncărcări cu trigliceride pe particulă. Hipertrigliceridemia se va accentua atunci când, la accelerarea sintezei de VLDL, se asociază cu deficit de îndepărtare a trigliceridelor, putându-se astfel ajunge la aspectul fenotipului V.

Există însă și posibilitatea unei sporiri a capacității de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă, astfel încât creșterea sintezei de VLDL este în bună măsură compensată iar singurele modificări decelabile sunt o accelerare a proceselor de turn-over a VLDL și de o creștere a concentrației de apoproteină B_{100} .

Soarta particulelor de IDL și LDL rezultate din catabolismul VLDL depinde de numărul și eficiența receptorilor apo B_{100} /apo E. O eficiență moderat redusă, a acestor receptori, asociată cu o sinteză accelerată de VLDL și o capacitate normală de prelucrare a VLDL în

Tabel 1.4.

Comportarea lipidelor serice în diverse tipuri de hiperlipoproteinemie. Valori medii \pm eroarea standard a mediei. Pentru tipurile IIa, IIb, IV și V sunt date valorile numerice obținute în cercetări proprii, iar pentru tipurile I și III s-au preluat după Schaefer și Levy (51). Din aceeași sursă sunt luate valorile pentru LDL colesterol, precum și rapoartele LDL colesterol/HDL colesterol și VLDL colesterol/VLDL trigliceride

Tip	Modificarea fracțiunilor lipoproteice	Aspectul plasmici răcite	Lipide serice		Raport** colesterol/trigliceride în plasmă	LDL colesterol (mg/dl)	Raport** LDL colesterol/HDL colesterol	Raport** VLDL colesterol/VLDL trigliceride
			Colesterol* (mg/dl)	Trigliceride* (mg/dl)				
I (12 cazuri)	Creșterea excesivă a chilomicronilor	smântănos, infranatant, clar	324 \pm 57	3316 \pm 677	0.10	22	1.29	0.09
II a (53 cazuri heterozigoți)	Creșterea beta-lipoproteinelor (Hiper-LDL)	clar	338 \pm 9.1	130 \pm 3.4	2.71	280	6.5	0.18
II b (130 cazuri)	Creșterea beta- și pre-beta lipoproteinelor (LDL+VLDL)	clar sau ușor opalescent	334 \pm 5.8	211 \pm 5.04	1.54	230	6.0	0.18
III (66 cazuri)	Creșterea beta-VLDL (beta-lăză)	mai des opalescent	441 \pm 54	694 \pm 60	0.60	111	2.97	0.42
IV (36 cazuri)	Creșterea pre-beta-lipoproteinelor (hiper VLDL)	opalescent	260 \pm 20	510 \pm 34	0.55	140	3.78	0.18
V (20 cazuri)	Creșterea pre-beta și a chilomicronilor (VLDL+chilo microni)	lăptos, infranatant, opalescent	370 \pm 40	2100 \pm 230	0.18	70	2.67	0.13

* Colesterol mmol/l = colesterol mg/dl x 0.0259; Trigliceride mmol/l = trigliceride mg/dl x 0.0114

** Valorile rapoartelor colesterol/trigliceride în plasmă, LDL colesterol/HDL colesterol și VLDL colesterol/VLDL trigliceride întâlnite la normali sunt de 2.17: 2.47 și respectiv 0.18.

Tabel 1.5.

Particularități clinice și metabolice frecvent asociate cu anumite tipuri de hiperlipoproteinemie. Aceste particularități nu se aplică neapărat în hiperlipidemiile cu caracter secundar (trecute în ultima coloană), chiar dacă ele pot realiza aspectele fenotipurilor descrise de Fredrickson și Lees.

Tip	Frecvența	Manifestări clinice asociate	Toleranța la glucoză	Asocierea cu supragrăutarea	Nivel plasmatic al unor enzime de secreție hepatică (colinesterază, LCAT, factor XIII)	Manifestări clinice ale aterosclerozei	Forme secundare unor îmbolnăviri ca:
I	foarte rară	Xantome eruptive Hepatomegalie Atacuri de pancreatită Dureri abdominale	normală	rar	mai des normal	rare	Diabet insulino-dependent cu acidocetoză, Alcoolism
II a	frecvență (heterozigoți)	Xantomatoză tuberotendinoasă (la homozigoți) Xantelasmă palpebrală	normală	rar	mai des normal	frecvente și precoce	Hipotiroidism; Mai rar în sindrom nefrotic
II b	frecvență	De regulă fără xantomatoză	normală sau scăzută	desul de des asociată	de regulă crescut	frecvente	Hipotiroidism; Sindrom nefrotic
III	rară	Xantomatoză tuberotendinoasă uneori xantome palmare	adeseori scăzută	asociere frecvență	crescut la obezi	frecvente și precoce	Hipotiroidism
IV	frecvență	Ficat ușor mărit (Steatoză hepatică)	adeseori scăzută	asociere foarte frecvență	de regulă crescut	frecvente	Diabet; Sindrom nefrotic; Alcoolism
V	relativ rară	Același ca în tipul I dar mai atenuate	adeseori scăzută	asociere frecvență	comportare variabilă	rare	Diabet grav cu acido-cetoză Alcoolism. Sindrom nefrotic

plasmă poate duce la o creștere predominantă a LDL și în mod surprinzător la realizarea fenotipului IIa.

De fapt, studii de cinetică a lipoproteinelor au demonstrat că o serie de subiecți cu fenotipul IIa prezentau o accelerare a secreției de VLDL, încadrându-se mai degrabă în hiperlipoproteinemie familială combinată și nu în hipercolesterolemia familială.

În cadrul fenotipurilor IV și V s-a diferențiat o entitate denumită **hipertrigliceridemia familială** și care diferă de hiperlipidemia familială combinată printr-un nivel relativ mai scăzut al apoproteinei B₁₀₀, o valoare normală a raportului apo B₁₀₀/colesterol și un risc mai redus pentru dezvoltarea aterosclerozei.

Spre deosebire de hiperlipidemia familială combinată, hipertrigliceridemia familială se caracterizează nu atât printr-un număr crescut de particule VLDL, cât mai ales printr-o creștere a încărcăturii de trigliceride pe fiecare particulă (32, 51). În astfel de cazuri, pe primul plan se situează un defect de îndepărtare a trigliceridelor. Spre deosebire de tipul I, în astfel de hipertrigliceridemii familiale, evoluând cu fenotipul V, se depistează rareori deficite severe de lipoproteinlipază sau de apo C II, dar există adeseori o creștere a apoproteinei C III bogată în acid sialic (apo C III₂) care limitează acțiunea lipoproteinlipazei și întârzie captarea resturilor de chilomicroni. În fig. 1.8 (vezi pag. 39) sunt reprezentate schematic mecanismele prin care se poate ajunge la o hipertrigliceridemie. De notat că hiperlipidemia familială combinată este mai aterogenă decât hipertrigliceridemia familială.

1.3.2.2. ANALIZA CRITICĂ A CRITERIILOR DE CLASIFICARE A HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

Cele arătate mai sus sunt în măsură să atragă atenția asupra imperfecțiunilor sistemului de clasificare a hiperlipoproteinemiei pe baza aspectului electroforezei în agaroză a lipoproteinelor (vezi tabel 1.4) și care nu dă indicii asupra defectului molecular care stă la baza anomaliei. Așa de exemplu, fenotipul IIa se poate întâlni atât în hipercolesterolemia familială cauzată de un deficit de receptori sau de o anomalie de apo B₁₀₀, cât și în hiperlipoproteinemie familială combinată în care aspectul se realizează printr-o secreție crescută de VLDL, care sunt mai rapid catabolizate spre LDL. De asemenea, hipertrigliceridemiile endogene realizând fenotipul IV pot fi rezultatul unor dereglări diferite în care accelerarea sintezei și deficitul de clearance intervin în proporții variabile. Se pare că un anumit grad de ineficiență a proceselor de clearance a trigliceridelor plasmatice reprezintă fondul genetic, iar accelerarea sintezei hepatice de VLDL ar fi consecutivă obezității de tip android (viscerală) și modului de viață (sedentarism, alimentație hipercalorică și bogată în dulciuri, consum de alcool).

Diferențierea hiperlipoproteinemiei în funcție de defectul molecular ar implica determinări de apoproteine și de variante ale acestora, explorarea activității enzimelor implicate în metabolismul lipidic și evaluarea eficienței receptorilor celulari. Chiar și diferențierea unei hiperlipidemii produse prin defect de catabolizare față de una cauzată de o sinteză și secreție accelerată, ar implica studii de cinetică a lipoproteinelor marcate cu izotopi radioactivi.

Date circumstanțiale sugerează însă că stările în care se poate bănuie o accelerare a sintezei de VLDL se asociază cu o creștere a activității unor enzime de secreție hepatică așa cum sunt colinesteraza și LCAT. În tabelul 1.6. se încearcă o prezentare a datelor actuale din literatură care urmăresc să stabilească legături între anumite defecte moleculare și mecanis-

Mecanisme patogenice, defectele moleculare depistate, entitățile genetice izolate și corespondența acestora cu fenotipurile descrise de Fredrickson și Lees.

Mecanism patogenic	Defecte moleculare	Modificări consecutive ale lipoproteinelor	Entitate genetică	Fenotipul
Defect sever de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă	Deficit de lipoproteinlipază Deficit de apo C II Apo C III anormală (C III ₂) variantă apo E ₃ /E ₄	Cresc chilomicronii Cresc chilomicronii și VLDL	Hipertigliceridemie exogenă severă (autosomal recesivă)	I V
Deficit de îndepărtare a IDL și resturilor de chilomicroni la nivel hepatic	Deficit de apo E Varianta apo E ₂ /E ₂ Deficit de lipază hepatică	Creșterea beta-VLDL (beta lată)	Disbetalipoproteinemie (autosomal recesivă)	III
Defect de îndepărtare a LDL și a IDL care se transformă în LDL	Deficit de receptori apo B ₁₀₀ /apo E Anomalie în apo B ₁₀₀ (mutația 3500 Arg → Gln)	Creșterea LDL	Hipercolesterolemie familială (autosomal dominantă)	II a
Defect minor de îndepărtare a trigliceridelor la care se poate asocia o accelerare a sintezei de trigliceride și mai puțin de apo B ₁₀₀	?	Creșterea VLDL (creșterea încărcăturii de trigliceride pe particulă)	Hipertigliceridemie familială (Autosomal dominantă)	IV
Accelerarea sintezei de VLDL, inclusiv a apo B ₁₀₀ Turn-over accelerat	Vezi addendum la finele capitoului	Cresc VLDL; cresc VLDL și LDL (creșterea unor LDL mai dense -LDL- III; creșterea raportului apo B ₁₀₀ /colesterol Mai rar: cresc VLDL + chilomicroni	Hiperlipidemie combinată familială (autosomal dominantă)	mai des IV și IIb; mai rar IIa și V

mele prin care se ajunge la dezvoltarea diverselor fenotipuri de hiperlipoproteinemie. De notat că nu se poate exclude asocierea a două sau chiar mai multor defecte moleculare și de fapt s-au descris hiperlipoproteinemii poligenice, mai greu de încadrat cu mijloacele laboratorului clinic.

1.3.2.3. ALTE ANOMALII ALE LIPOPROTEINELOR ȘI LIPIDELOR

1.3.2.3.1. Prezența de LDL anormale (betasitosterolemia și xantomatoza cerebrotendinoasă)

Creșterea anormală a absorbției intestinale a unor steroli de origine vegetală poate favoriza atât dezvoltarea xantoamelor cât și dezvoltarea precoce a leziunilor aterosclerotice, deși colesterolemia se situează în limite normale. Din fericire, fenomenele pot fi influențate favorabil prin terapia orală cu colestiranină care inhibă absorbția de sitosteroli.

În cazurile de xantomatoză cerebrotendinoasă se acumulează în plasmă colestanol, un compus steroidic intermediar (similar colesterolului dar lipsit de dublă legătură și de lanțul lateral).

Această anomalie cauzată de un efect metabolic pe calea de sinteză a colesterolului se asociază cu o deprimare marcată a sintezei de acizi biliari și evoluează cu xantomatoză la nivelul tendoanelor și fenomene neurologice. Administrarea de chenodeoxicolat (250 mg de 3 ori pe zi) reduce concentrația plasmatică de colestanol și încetinește evoluția fenomenelor neurologice (27).

1.3.2.3.2. Deficite de chilomicroni, VLDL și LDL (abetalipoproteinemia și hipobeta-lipoproteinemia)

În caz de scădere a colesterolemiei sub 50 mg/dl (sub 1.3 mmol/l) se poate bănui prezența unei abetalipoproteinemii. Anomalia este cauzată de un deficit autosomal recesiv în procesul de sinteză a apoproteinei B. În unele cazuri se constată absența totală a lipoproteinelor conținând în structura lor apo B₁₀₀ sau apo B₄₈ (VLDL, LDL, chilomicroni). Anomaliile, respectiv deficitul de apo B₄₈, se asociază cu tulburări de absorbție a lipidelor, care se elimină prin fecale (steatoree). În toate cazurile survin modificări de formă ale eritrocitelor, care au un aspect crenelat cu spini (acantocitoză). Mai grave sunt însă afectarea retinei (retinită pigmentară) și tulburările nervoase caracterizate prin ataxie și având ca substrat morfologic o demielinizare a cordoanelor posterioare și laterale ale măduvei.

S-a descris și o așa-zisă abetalipoproteinemie normotrigliceridemică în care apo B₄₈ este prezentă în plasmă, iar absorbția trigliceridelor și formarea chilomicronilor decurge normal. Deși apo B₁₀₀ lipsește și implicit nu se formează VLDL, manifestările clinice sunt mai puțin severe decât în deficitul ambelor apoproteine B.

Hipobetalipoproteinemia este o anomalie de sine stătătoare și nu doar o formă minoră a afecțiunii descrise mai sus.

Hipobetalipoproteinemia se trimite printr-un mecanism autosomal dominant, fiind deci mai frecvent depistată. La heterozigoți, nivelele de LDL și VLDL sunt de aproximativ 50% din cele normale, după cum scăzut este și nivelul colesterolemiei, iar manifestările clinice, semnalate la subiecții cu abetalipoproteinemie, lipsesc. Homozigoții proveniți din doi părinți

cu hipobetalipoproteinemie prezintă însă toate manifestările clinice și de laborator ale abetalipoproteinemiei (6.27).

Deși rare, astfel de cazuri au o deosebită importanță teoretică demonstrând importanța apo B₄₈ pentru absorbția lipidelor și a apo B₁₀₀ pentru transportul lipoizilor și vitaminelor liposolubile spre celulele țesuturilor extrahepatice și în special spre retină și sistemul nervos. De notat că administrarea parenterală de vitamina A și E încetinește progresiunea complicațiilor neurologice și oculare.

Pe de altă parte, lipsa manifestărilor clinice la subiecții cu hipobetalipoproteinemie (heterozigoți) având aproximativ 50% din valorile normale de VLDL și LDL, denotă că organismul uman ar putea face față necesităților cu o cantitate de LDL mult mai redusă decât cea considerată în prezent ca fiind normală pentru populația europeană și nordamericană.

Studii de biologie moleculară au precizat că o aceeași genă de structură, localizată pe cromozomul 2, codifică atât sinteza hepatică de apo B₁₀₀ (4536 aminoacizi) cât și sinteza în mucoasa intestinală a apo B₄₈ (2152 aminoacizi). Formarea apoproteinei B₄₈ ar fi rezultatul introducerii unui codon stop prematur, care întrerupe formarea lanțului peptidic după aminoacidul cu numărul 2152.

S-au identificat diverse mutații prin care se poate ajunge la trunchieri ale apo B la alte nivele și implicit la producerea unor apo B normale (apo B₄₆; apo B₃₇; apo B₃₉) a căror secreție decurge mai lent și având drept consecință diverse grade de hipobetalipoproteinemie (59).

1.3.2.3.3. Deficitul de HDL

S-au descris mai multe deficite evoluând cu diferite grade de reducere a concentrației plasmatică de HDL.

Astfel **hipoalfalipoproteinemia familială** se caracterizează prin valori medii ale colesterolului din HDL de 26 mg/dl și care sunt evident sub limita inferioară de 33 mg/dl. Transmisă autosomal dominant, anomalia este relativ frecvent întâlnită și evoluează cu o accentuată predispoziția la ateroscleroză.

În așa-zisa **boală Tangier** nivelul de HDL scade mult mai mult, astfel încât heterozigoții prezintă valori de aproximativ 50% din media normalilor, iar la homozigoți se întâlnesc nivele de aproximativ 1% din valorile normale. La aceștia din urmă, colesterolemia se situează la valori de 50-90 mg/dl, trigliceridele sunt moderat crescute, iar în țesuturi se constată o acumulare de esteri de colesterol. Se ajunge la o hepatosplenomegalie și adenopatii, iar amigdalele capătă un aspect galben-portocaliu ca un fagure de miere. La aceste manifestări se adaugă un oarecare grad de opacifiere a corneei și o tendință la dezvoltarea prematură a aterosclerozei (27).

Scăderea HDL se asociază cu un nivel extrem de scăzut al apo A-I care nu este consecința unui deficit de sinteză, ci ca urmare a eliberării unei apo A-I modificată și susceptibilă la o catabolizare rapidă.

Avându-se în vedere că particulele de HDL asigură transportul colesterolului de la țesuturile extrahepatice spre ficat și că apo A-I este un cofactor al enzimei LCAT care asigură esterificarea colesterolului în plasmă, scăderea esterilor de colesterol în plasmă și acumularea acestora în țesuturi apare ca o consecință logică a deficitului de apo A-I. Faptul că în țesuturi se găsește mai ales esteri de colesterol se explică prin aceea că, orice creștere de colesterol liber în celulă activează ACAT (acil-CoA-colesterol-aciltransferază), enzima care catalizează esterificarea intracelulară a colesterolului (27).

Defectul combinat de apoproteină A-I și C III se asociază cu valori extrem de scăzute ale HDL, scădere a colesterolemiei, xantomatoză cutanată și palpebrală, opacifierea corneei

și tendință deosebit de accentuată la dezvoltarea precoce a aterosclerozei. Spre deosebire de boala Tangier, scăderea nivelelor de apo A-I și apo C-III nu se datorează unei catabolizări excesiv de rapide, ci unui real deficit de sinteză a acestor apoproteine (47).

Un deficit de HDL în care opacifierea corneei se situează pe prim plan este așa-numita **boală a ochilor de pește** (fish eye disease).

S-au descris și cazuri în care opacifierea corneei și boala coronariană precoce se asociază în mod paradoxal cu o creștere a concentrației de colesterol din HDL. Întrucât această creștere se limitează la subfracțiunea HDL 2 supraîncărcată cu lipide (mai ales esteri de colesterol) se consideră că anomalia ar consta dintr-un deficit de transfer al esterilor de colesterol din HDL spre VLDL sau a încetinirii captării hepatice a încărcăturii lipidice din HDL2. De fapt în astfel de cazuri de **hiper HDL₂ colesterolemie familială** se ajunge la o blocare a transportului în revers a colesterolului și la o acumulare a acestuia în țesuturi (41).

1.3.2.3.4. Deficitul familial de lecitincolesterol-aciltransferază (LCAT)

Autori scandinavi au descris două surori care prezentau ateroscleroză precoce, opacifierea corneei, anemie normocromă hiporegenerativă, proteinurie și insuficiență renală progresivă. Explorările de laborator au evidențiat o scădere marcată a esterilor de colesterol și a lizolecitinei în timp ce colesterolul liber și lecitina sunt evident crescute.

Examenul electroforetic al lipoproteinelor în gel de agaroză evidențiază o scădere exprimată a fracțiunii α_1 o mică cantitate de HDL migrând întârziat în fracțiunea α_2 . fracțiunea prebeta se contopește cu fracțiunea beta care apare mult lărgită înglobând și cantități variabile de LpX bogată în colesterol liber și lecitină (vezi pag. 18). Toate aceste anomalii s-au dovedit a fi datorate deficitului de LCAT care în mod normal transferă un acid gras de pe lecitină pe colesterol formând esteri de colesterol și lizolecitină. Întrucât LCAT formează împreună cu HDL o unitate funcțională cu rol de transport în revers a colesterolului, se ajunge la o acumulare de colesterol (și de lecitină în acest caz) în țesuturi. Așa se explică manifestările clinice descrise mai sus, având ca substrat formarea de celule spumoase în măduva osoasă și rinichi precum și infiltrarea de colesterol în toate straturile stromei corneei. Totodată acumularea de colesterol liber și de lecitină în membrana eritrocitelor duce la deformări ale acestora realizând aspecte în țintă (46).

1.3.2.3.5. Deficitul de hidroliză intracelulară a esterilor de colesterol

Aceste mutații nu afectează lipoproteinele plasmatice sau receptorii celulari ai acestora, dar se soldează cu importante acumulări de esteri de colesterol și de trigliceride în diverse țesuturi. Reamintim cu acest prilej că țesuturile primesc mai ales esteri de colesterol furnizați prin LDL și captați prin receptori, dar că pentru formarea membranelor celulare, iar în anumite organe pentru sinteza de hormoni sau de acizi biliari, în ficat, este necesară o prealabilă hidroliză a esterilor amintiți. Deficitul de colesteresterhidrolază acidă care asigură eliberarea colesterolului din esterii săi în celule se soldează cu acumularea esterilor de colesterol în lizozomi și determină boli deosebit de grave. Astfel **boala Wolman** duce la supraîncărcarea cu esteri de colesterol și la calcifierea glandelor suprarenale, decesul survenind înaintea vârstei de un an.

Boala stocării esterilor de colesterol este mai benignă iar unii subiecți afectați au supraviețuit peste vârsta de 40 de ani. Ambele anomalii se transmit după un mecanism autosomal recesiv și sunt rare, iar cauzele diferenței în privința gravității între cele două entități nu sunt încă elucidate (27).

Prezentare schematică a tezurismozelor cu sîngolipide

Denumirea bolii	Lipoidul acumulat	Compoziția lipoidului	Defectul enzimatic	Organele în care are loc acumularea și manifestări clinice consecutive
Sfingomielinoză (Niemann-Pick)	Sfingomicelina	acid gras-sfingozină-fosforil-colină	Sfingomielinază	ficat, splină, unele zone din creier, retardare fizică și mintală
Gangliozidoze neuroviscerale	Gangliozid	acid gras-sfingozină-galactoză-acetil-galactozamină-galactoză	Galactozidază specifică	ficat, creier, idioție amaurotică
Tay-Sachs	Gangliozid (fără galactoză terminală)	acid gras-sfingozină-galactoză-acetil-galactozamină	N-acetilgalactozidază specifică	creier, retardare mintală până la idioție amaurotică
Boala Gaucher	Glicozilceramidă (cerebrozid)	acid cerebronic (acid gras hidroxilat-sfingozină-glucoză	Glucocerebrozidază	ficat, splină, ganglionii limfatici, hepatosplenomegalie, hipersplenism (leucopenie, trombocitopenie)
Boala Fabry	Trihexozidceramidă	acid cerebronic-sfingozină-glucoză-galactoză-galactoză	Galactozidazoceramid trihexozidază	rinichi (glomeruli și tubi), ficat, splină, vase, insuficiență renală, tromboză coronariană
Leucodistrofie metacromatică	Sulfatid (cerebrozid-sulfat)	acid cerebronic-sfingozină-galactozo-3-sulfat	Sulfatază	sistem nervos central și rinichi manifestări date de demielinizare (paraplegie spastică, retardare mintală, fenomene cerebeloase)

1.3.2.3.6. Anomalii ale sfingolipidelor (tezaurismoze lipidice)

Acest grup de îmbolnăviri rare, cu caracter familial, au la bază acumulări de sfingolipide în diverse țesuturi. Sfingolipidele constituie un grup heterogen de compuși având în comun un alcool aminat cu 18 atomi de carbon denumit sfingozină. Legarea sfingozinei într-o legătură amidică cu un acid gras (N-acilsfingozina) formează așa-zisele ceramide care constituie unitatea de bază a sfingolipidelor. Întrucât diagnosticul acestor anomalii se bazează mai ales pe studierea materialului bioptic și beneficiază în mică măsură de aportul laboratorului clinic, ne limităm a le reda sub formă succintă în tabelul 1.7.

1.4. LIPOPROTEINELE ȘI ATEROGENEZA

Deși există un consens după care anumite anomalii ale lipoproteinelor serice reprezintă un factor de risc pentru dezvoltarea leziunilor aterosclerotice, mecanismele prin care se instalează aceste leziuni sunt controversate. În prezentul subcapitol ne vom limita la relatarea unor fapte de observație verificate, încercând să le corelăm cu anomaliile metabolismului lipidic. În esență, fenomenele implicate în aterogeneză pot fi astfel sistematizate:

- a. acumularea intra și extracelulară de material lipidic, mai ales colesterol și prezența de apo B₁₀₀ în peretele arterial;
- b. existența unor procese de modificare a particulelor de LDL pătrunse în peretele arterial;
- c. migrarea unor monocite din sângele circulant în subendoteliu și formarea celulelor spumoase;
- d. proliferarea celulelor musculare netede ale peretelui arterial;
- e. acumularea de țesut conjunctiv (fibre de collagen și proteoglicani) și formarea unei capsule fibroase care acoperă materialul lipidic acumulat;
- f. formarea de microtrombi murali fibrinoplachetari care au o mare tendință de incorporare în straturile subendoteliale ale peretelui arterial;
- g. prezența complexului de atac al membranei (complexul C5b-9 al sistemului complement) pe membrana celulelor în curs de liză;
- h. prezența de leziuni ale endoteliilor cu sau fără zone de deendotelizare, indicând procese reparatorii prin migrarea și proliferarea celulelor, asociate cu anomalii funcționale ale celulelor endoteliale;
- i. posibilitatea de fisurare a capsulei fibroase a ateromului și declanșarea unor complicații trombotice prin contactul sângelui cu materialul ieșit din placa fisurată.

1.4.1. ACUMULĂRI DE COLESTEROL ÎN PERETELE VASCULAR ȘI FORMAREA CELULELOR SPUMOASE

Acest proces, care rezultă dintr-un dezechilibru între pătrunderea de LDL prin endoteliu și mecanismele care asigură îndepărtarea acestora și în special a excesului de colesterol, nu poate fi înțeles fără a se ține cont de rolul elementelor celulare. De fapt, plăcile ateromatoase sunt umplute cu celule gunoier (scavenger cells) care înglobând mari cantități de material lipidic din LDL și IDL se transformă în celule spumoase. Astfel de celule provin fie din macrofagele peretelui arterial, fie din monocitele sângelui circulant care pătrund în acest perete, fie la nivelul unor leziuni endoteliale, fie prin diapedeză (9).

Există dovezi că macrofagele captează cu aviditate mai ales particulele de LDL modificate (peroxidate, acetilate, malonilate, succinilate, glicozilate sau cuplate cu pro-

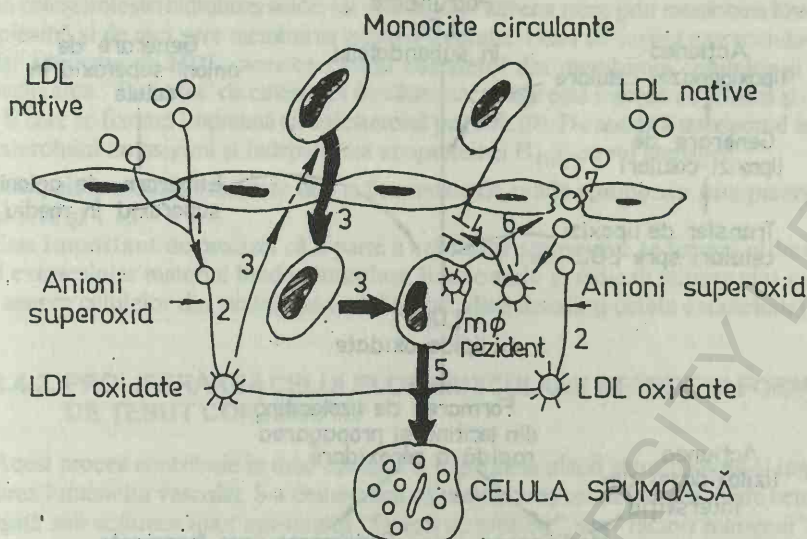


Fig. 1.12. Rolul particulelor de LDL modificate oxidativ în procesul de formare a celulelor spumoase. 1) particulele de LDL pătrund în spațiile subendoteliale și 2) suferă un proces de oxidare sub acțiunea anionilor superoxid generați de celulele peretelui vascular (monocite/macrofage; endotelii; celule musculare netede); 3) LDL oxidate atrag monocitele care înglobează aceste particule; 4) monocitele/macrofage încărcate cu LDL își reduc motilitatea și rămân blocate în peretele arterial ca macrofag (mφ) rezident, continuând să înglobeze LDL oxidate și 5) transformându-se în celule spumoase; 6) LDL oxidate și macrofagele încărcate cu aceste particule exercită un efect local producând o disfuncție endotelială și 7) accentuează insudarea de LDL din plasmă (după Steinberg și colab. (54), cu unele modificări).

teoglicani). De remarcat că particulele de LDL mai dense (LDL III), relativ mai bogate în apo B₁₀₀, se fixează cu mai mare afinitate în peretele arterial și având un "timp de rezidență" prelungit sunt mai susceptibile la oxidare.

De fapt, sub acțiunea radicalilor superoxizi generați de macrofagele activate se produc modificări oxidative ale lizinei din apo B₁₀₀ și a fosfolipidelor din particulele de LDL. De notat că lichidul extracelular al tendoanelor și al aortei conține liziloxidază, o enzimă cu rol în legarea transversală a fibrelor de collagen, dar care ar putea oxida și radicalii epsilon-amină ai lizinei din apo B₁₀₀. În principiu, acești radicali ar putea reacționa și cu alți compuși cum sunt malondialdehida produsă în cursul generării de prostaglandine în plăcuțele activate sau cu leucotrienele formate sub acțiunea lipoxigenazei. Toate reacțiile menționate cresc încărcarea electronegativă a particulelor de LDL și favorizează captarea lor de către macrofage prin intermediul unor receptori speciali care diferă de receptorii apo B₁₀₀/apo E. O caracteristică importantă a receptorilor de la suprafața "celulelor gunoier" constă în faptul că nu sunt reglabili, permițând astfel acumulări mari de LDL care depășesc capacitatea celulei de a le metaboliza, ajungându-se astfel la formarea de celule spumoase (54).

Mecanismele care tind să prevină o acumulare excesivă de LDL și de colesterol (mai ales sub formă de esteri) sunt și ele dependente de elementul celular. Astfel, în condițiile unei transitoze moderate de LDL, macrofagele din zona subendotelială care au înglobat aceste

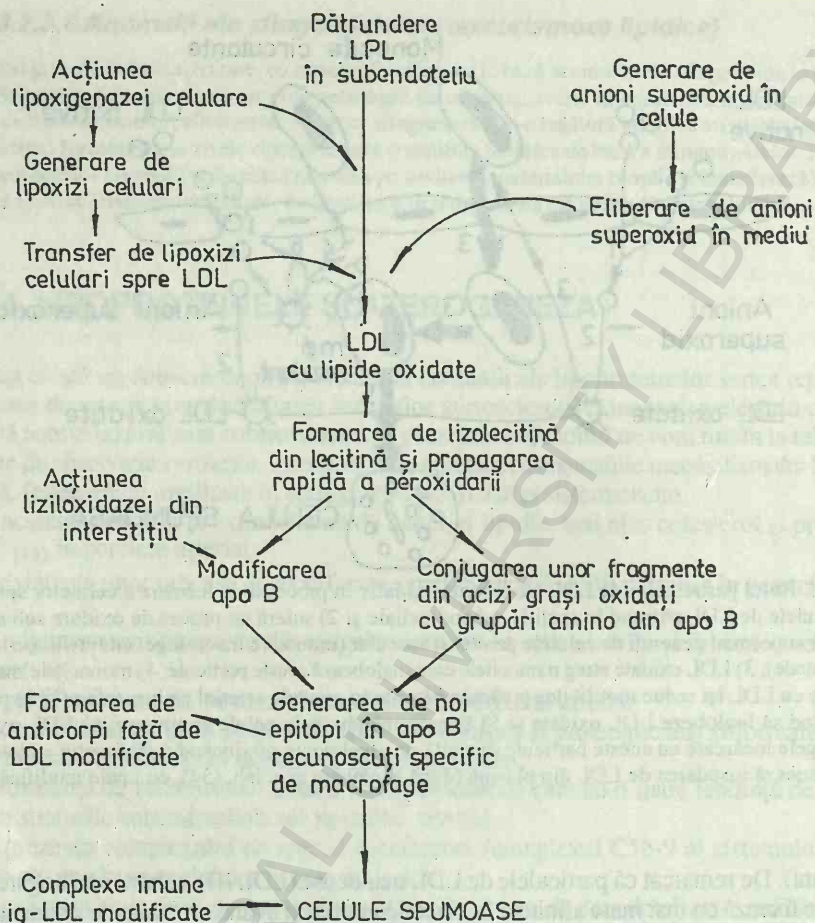


Fig. 1.13 Modificări biochimice care duc la creșterea aterogenității particulelor de LDL. Modificată după Steinberg și colab. (54).

lipoproteine (însă nemodificate) părăsesc peretele arterial din diapedeză (printre celulele endoteliale) trec în circulație și sunt blocate în splină și în ganglionii limfatici unde sunt degradate.

În condițiile unei insudări excesive de LDL care stagnează în peretele vascular și ajung să sufere procesele oxidative menționate, aceste particule de LDL modificate vor inhiba motilitatea macrofagelor care rămân astfel blocate în peretele arterial, continuând să înglobeze lipoproteine și transformându-se în celule spumoase. Totodată LDL oxidate și încorporate în macrofage stimulează metabolizarea acidului arahidonic în aceste celule, ceea ce duce la eliberarea de prostaglandine și leucotriene cu efect proinflamator (2,24). Același efect proinflamator, având ca rezultat creșterea permeabilității vasculare și insudarea de plasmă în spațiile subendoteliale, este exercitat și de diversele citokine produse de monocit/macrofag.

Un alt mecanism de prevenire a supraîncărcării cu esterii de colesterol a peretelui vascular este reprezentat de transportul în revers - de la țesuturi la ficat - al colesterolului. De fapt, esterii de colesterol din particulele de LDL înglobate în macrofage sunt hidrolizați sub

acțiunea colesterolesterhidrolazei acide, iar colesterolul eliberat trece prin membrana lizosomală în citoplasmă și de aici spre membrana externă a celulei. Dacă în mediul extracelular există cantități adecvate de HDL, acestea preiau colesterol din membrana celulelor și previn supraîncărcarea. "Excreția" de colesterol de către macrofage este însoțită de sinteza și secreția de apo E care se fixează împreună cu colesterolul pe HDL (9). De notat că transportul în revers al colesterolului nu asigură și îndepărtarea apoproteinei B₁₀₀ cu rol aterogen.

Principalele mecanisme care duc la formarea de celule spumoase sunt prezentate în figurile 1.12 și 1.13.

Este important de precizat că o parte a celulelor spumoase se lizează eliberând în mediul extracelular material lipidic, hidrolaze lizomale și radicali superoxizi cu efecte toxice asupra celulelor din vecinătate (celule musculare netede și celule endoteliale).

1.4.2. PROLIFERAREA CELULELOR MUSCULARE NETEDE ȘI FORMAREA DE ȚESUT CONJUNCTIV

Acest proces contribuie în mod esențial la îngroșarea plăcii ateromatoase și implicit la îngustarea lumenului vascular. S-a demonstrat că proliferarea celulelor musculare netede este declanșată sub acțiunea unor așa-numiți "factori de creștere" sau "factori mitogeni". Inițial acești factori au fost identificați în plăcuțele sanguine, de unde și denumirea de PDGF (platelet derived growth factors). Ulterior s-a arătat că astfel de factori pot fi sintetizați și eliberați și de alte celule din peretele vascular (celule endoteliale, celule musculare netede și monocite/macrofage). Celulele musculare proliferate dobândesc proprietăți secretorii producând fibre de collagen, elastină și proteoglicani care realizează o capsulă fibroasă ce include un material cremos gălbui alcătuit din celule spumoase, detritusuri celulare și material lipidic extracelular (athero = terci). Ulcerarea acestei plăci, respectiv perforarea capsulei fibroase face ca terciul mai sus menționat și bogat în factor tisular, care activează coagularea, să vină în contact cu lumenul vascular și deci cu elementele sângelui circulant, determinând complicații trombotice.

Pentru patologia clinică este important de precizat că deși proliferarea celulelor musculare netede și implicit formarea de țesut fibros îngustează lumenul vascular, acest proces

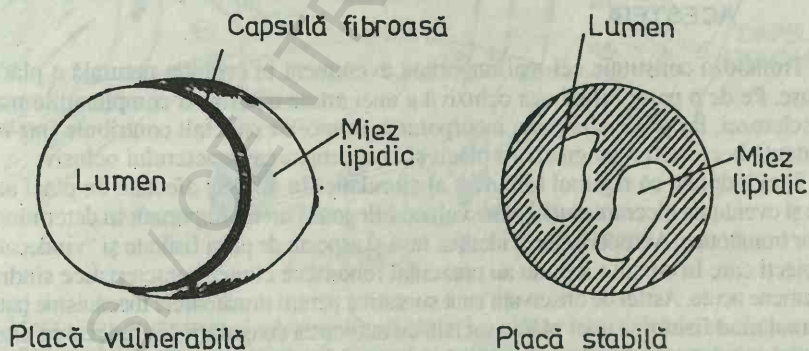


Fig. 1.14. Reprezentarea schematică a diferențelor între o placă "vulnerabilă" și una stabilă. De multe ori o placă vulnerabilă are un lumen bine păstrat, deoarece, inițial, placa aterosclerotică se dezvoltă spre exterior. Astfel de plăci au însă o capsulă fibroasă subțire, astfel încât separarea sângelui circulant față de bogatul material lipidic din placă nu este pe deplin asigurată, iar în cazul unei fisuri se expune factor tisular din celulele spumoase cu efect protrombotic.

contribuie la integritatea plăcii ducând la o placă ateromatoasă stabilă care corespunde pe plan clinic anginei stabile, o afecțiune relativ benignă. Dimpotrivă, plăcile având o capsulă fibroasă subțire și care sunt bogate în celule spumoase și material lipidic, se pot fisura mai ușor (mai ales pe marginea lor) și duc la formarea de trombi și respectiv la sindroame coronariene acute ca angina instabilă, infarctul miocardic și moartea subită (36) (vezi fig. 1.14).

1.4.3. MECANISME IMPLICATE ÎN DESTABILIZAREA UNEI PLĂCI ATEROSCLEROTICE ȘI PRODUCEREA UNEI PLĂCI VULNERABILE

Așa cum s-a arătat mai sus, celulele musculare netede constituie un fel de paznici ai integrității capsulei fibroase a plăcii ateromatoase. Activitatea acestor celule în procesele de sinteză și secreție a fibrelor de collagen este reglabilă, fiind potențată de PDGF și mai ales de către factorul de creștere transformant beta (TGF-beta, transforming growth factor beta).

Pe de altă parte, activitatea secretorie a celulelor musculare netede precum și proliferarea acestora este puternic inhibată de către interferonul gama (IFN- γ) produs de limfocitele T, prezente mai ales în zonele vulnerabile (subțiate) ale capsulei fibroase. Slăbirea capsulei fibroase este accentuată și prin intervenția unor enzime de tipul metaloproteinazelor (colagenaze, gelatinaze, stromelizine) care produc degradarea unui spectru larg de constituenți ai matricei extracelulare, inclusiv a collagenului, elastinci și proteoglicanilor. De notat că sinteza și eliberarea acestor enzime din celulele plăcii ateromatoase este stimulată de către citokinele proinflamatorii cum sunt interleukina 1 (IL-1) și factorul de necroză a tumorilor (TNF) produse de monocite/macrofage activate și mai ales de către cele care au înglobat LDL oxidate (celule spumoase).

Se poate deci considera că un proces inflamator torpid (mucnit) la nivelul plăcii și prezența de limfocite T sunt în măsură să subțieze capsula fibroasă atât prin reducerea sintezei de țesut conjunctiv cât și printr-o degradare accelerată a componentelor acestui țesut. O astfel de "placă vulnerabilă" se poate fisura ducând la complicații trombotice (36) (Vezi fig. 1.15).

1.4.4. ROLUL TROMBOZEI ÎN ATEROSCLEROZĂ ȘI ÎN COMPLICAȚIILE ACESTEIA

Tromboza constituie cel mai important eveniment în evoluția naturală a plăcii ateromatoase. Pe de o parte, tromboza ocluzivă a unei artere determină complicațiile majore ale aterosclerozei, iar pe de altă parte incorporarea trombilor parietali contribuie într-o măsură importantă la creșterea progresivă a plăcii și la accentuarea caracterului ocluziv.

Fără îndoială că regimul turbulent al circulației în arterele afectate de plăci aterosclerotice și eventuala ulcerare a unei plăci vulnerabile joacă un rol important în determinarea proceselor trombotice. Autopsiile au evidențiat însă și aspecte de plăci fisurate și "vindecate" local, la subiecți care în cursul vieții nu au prezentat fenomene clinice caracteristice sindroamelor coronariene acute. Astfel de observații sunt sugestive pentru următoarele mecanisme patogenice. În primul rând fisurarea unei plăci asociată cu activarea coagulării și vindecarea ulterioară a ulcerăției ar putea reprezenta o cale majoră a progresiunii a leziunilor aterosclerotice. În al doilea rând, se poate presupune că evoluția spre o tromboză ocluzivă, în cazul unei fisurări a plăcii, depinde de o eventuală predispoziție la tromboză a pacientului, cauzată de o hiperreactivitate a plăcuțelor, de o hipercoagulabilitate și/sau de o insuficiență a sistemului fibrinolitic (17).

De fapt, bolnavii aterosclerotici, precum și subiecții prezentând factori de risc, prezintă modificări ale echilibrului hemostatic care predispun la formarea de trombi, și care pot fi, cel puțin în parte sau indirect corelate cu perturbarea metabolismului lipidic. Așa de exemplu, creșterea reactivității plăcuțelor la bolnavii cu hipercolesterolemie familială și leziuni aterosclerotice a fost pusă în legătură nu numai cu regimul de curgere a sângelui într-un teritoriu arterial cu numeroase zone de leziune, dar și cu o creștere a colesterolului în membrana plăcuțelor sanguine (11).

Se știe de asemenea că la subiecții cu hiperlipemie familială combinată (tip II b și IV), și mai ales la cei care prezintă obezitate intraabdominală (androidă), accelerarea sintezei hepatice de VLDL se asociază cu o creștere a nivelului plasmatic al unor factori ai coagulării (mai ales factorul VII), al factorului XIII stabilizator al fibrinei, al fibronectinei, al fibrinogenului și al inhibitorilor activării plasminogenului (PAI), toate aceste variabile cu rol în hemostază, fiind și ele sintetizate în ficat (15, 48). Se poate deci presupune că într-o plasmă bogată în factor VII coagularea se va activa mai intens în contact cu factorul tisular din membrana celulelor spumoase ieșite din placa fisurată sau expus la suprafața endoteliilor vasculare adiacente plăcii aterosclerotice.

Apare de asemenea logic să se considere că un tromb mai bogat în fibronectină, în factor XIII și în inhibitori ai fibrinolizei va fi mai rezistent la fibrinoliză și mai rapid incorporat în straturile subendoteliale ale peretelui vascular. Reamintim că sub acțiunea factorului XIII se încorporează inhibitori ai fibrinolizei (în speță α_2 antiplasmină) în rețeaua de fibrină și se stabilesc legături covalente între monomerii de fibrină, între acești monomeri și fibronectină, iar prin intermediul acestora cu fibrele de collagen (15). Exagerarea acestor procese, care până la un anumit punct au un caracter reparator, se poate solda cu tromboză ocluzivă. La dezvoltarea acestora joacă un rol important și modificările patologice ale endoteliilor vasculare (15, 17).

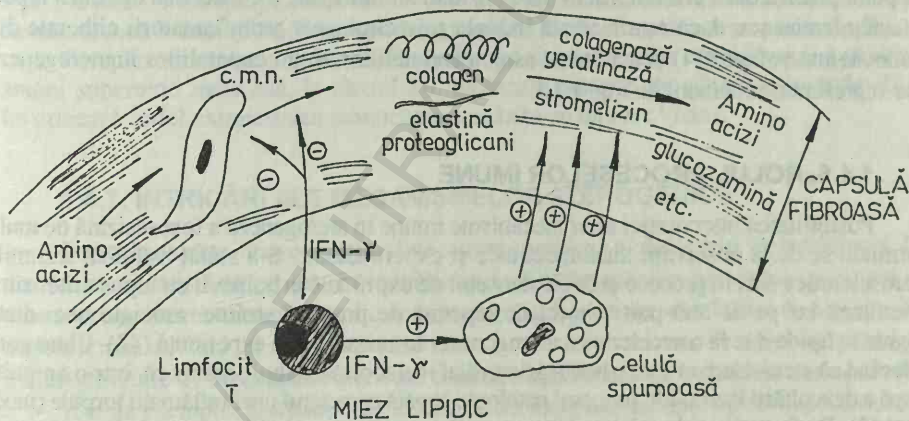


Fig. 1.15. Mecanisme prin care o placă aterosclerotică devine vulnerabilă. Celulele musculare netede (c.m.n.) sintetizează din aminoacizi matricea proteică extracelulară, respectiv collagen, elastină și proteoglicani care formează capsula fibroasă a unei plăci. Limfocitele T, pătrunse în placă, inhibă însă acest proces secretând interferon-gama (IFN- γ). Tot prin intermediul IFN- γ se stimulează secreția unor proteinaze (colagenază, gelatinază, stromelizin) de către macrofage și de către celulele spumoase. Aceste proteinaze degradează collagenul și elastina slăbind astfel capsula fibroasă (după Libby (36)).

1.4.5. ANOMALII ALE ENDOTELIILOR

Datele experimentale au demonstrat că deendotelizarea repetată a unei artere cu ajutorul unui cateter prevăzut cu un balon gonflabil este urmată de dezvoltarea unor plăci ateromatose în zonele lezate. Cercetările mai recente au arătat însă că denudarea endotelială nu este o trăsătură constantă și mai ales nu constituie o modificare precoce în ateroscleroza indusă de hipercolesterolemie. De fapt, răspunsul endoteliilor la o varietate de stimuli nocivi nu implică în mod necesar un proces de necroză și denudare, ci se traduce prin modificări mai subtile ale funcției (disfuncție endotelială) sau prin inducerea de noi proprietăți ale endoteliilor. Așa de exemplu, citokinele proinflamatorii (IL-1) precum și lizolecitina generată în particulele de LDL (și de VLDL) oxidate induc, încă din etapele inițiale ale aterogenezei, sinteza unor proteine cum sunt ELAM (endothelium leukocyte adhesion molecule) și VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) care, așa cum le spune numele, asigură aderarea monocitelor la peretele vascular (20). Tot sub acțiunea citokinelor, endoteliile își modifică proprietățile hemostatice, eliberând factor von Willebrand care asigură aderarea mai fermă a plăcuțelor la straturile subendoteliale, expunând la suprafață factor tisular cu rol în inițierea coagulării și reducându-și activitatea profibrinolitica (4,15).

Există dovezi experimentale conform cărora hipercolesterolemia ar perturba procesul de relaxare a vaselor și care este mediat de agenții eliberați din endotelii. Se pare că acest efect al hiperlipidemiei, care predispune la spasme vasculare, s-ar datora unei degradări oxidative accelerate a factorului de relaxare derivat din endotelii (EDRF), respectiv a oxidului nitric (NO), sub acțiunea anionilor superoxid generați din particulele de LDL oxidate, din celulele spumoase și chiar de către endoteliile subiecților hipercolesterolemici. S-a mai arătat că enzima implicată în producerea anionilor superoxid ar fi xantinoxidaza endotelială, dar nu s-a putut preciza dacă creșterea activității enzimei amintite este o consecință directă a hipercolesterolemiei sau dacă este mediată indirect prin citokinele proinflamatorii eliberate din monocite/macrofage (24) și acționând asupra endoteliilor. Rolul endoteliilor în aterogeneză este reprezentat schematic în Fig. 1.16.

1.4.6. ROLUL PROCESELOR IMUNE

Posibilitatea intervenției unor mecanisme imune în aterogeneză a fost sesizată de mult, pornindu-se de la observații anatomoclinice și experimentale. S-a arătat astfel că leziunile aterosclerotice survin precoce și devin deosebit de exprimate la bolnavii cu lupus eritematos diseminat, iar pe de altă parte, injecțiile repetate de proteine străine, asociate unei diete bogate în lipide duc la o accelerare a aterogenezei la animalele de experiență (42). Chiar considerând că ateroscleroza este o boală primordial metabolică, trebuie admis că, într-o anumită etapă a dezvoltării leziunilor, procesul patologic capătă caracterul unei inflamații torpide (mucinate) (2). De fapt, din cele relatate pe parcursul acestui subcapitol s-a putut deduce că penetrarea monocitelor în peretele vascular, are, inițial, semnificația unei reacții de apărare, dar că, prin blocarea lor în peretele vascular, aceste celule cu rol în imunitate ajung să genereze citokine proinflamatorii cu rol în întreținerea și progresiunea procesului patologic (54).

De asemenea, infiltrarea cu limfocite, care lipsesc din arterele normale, modulează proliferările celulare din placa ateromatoasă, iar, prin intermediul IFN- γ , contribuie la reducerea capsulei fibroase și la dezvoltarea unei plăci vulnerabile.

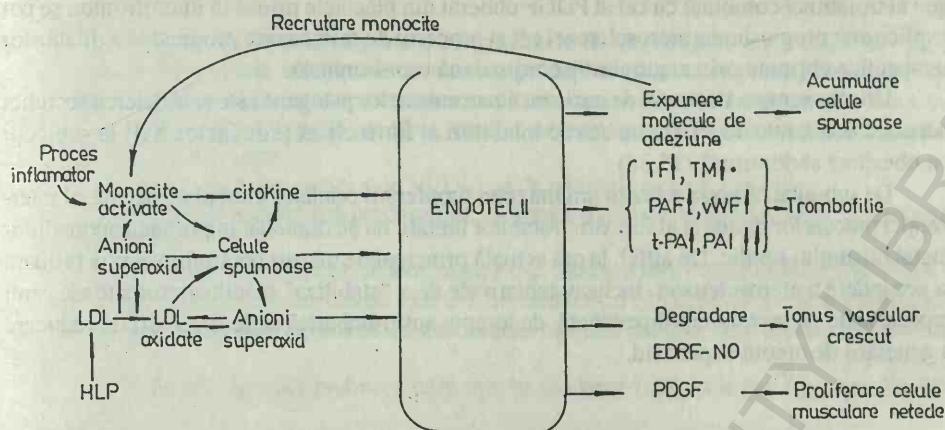


Fig.1.16. Reprezentare schematică a "disfuncției endoteliale" survenită în cursul aterogenezei. HLP - hiperlipoproteinemie; TF - factor tisular; TM - trombomodulină; PAF - factor activator al plăcuțelor; vWF - factor von Willebrand; t-PA - activator tisular al plasminogenului; PAI - inhibitor al t-PA; EDRF-NO - factor de relaxare derivat din endotelii - oxid nitric. PDGF - factor de creștere derivat din plăcuțe (produs însă și de către celulele endoteliale, monocite/macrofage și celule musculare netede). Endoteliile apar astfel ca un integrator al stimulilor fiziopatologici în aterogeneză.

S-a mai arătat că modificările oxidative ale LDL generează noi epitopi antigenici în apo B₁₀₀, față de care se pot dezvolta anticorpi și implicit formarea de complexe imune în peretele vascular, creându-se astfel premise și pentru activarea sistemului complement. De fapt, s-a putut evidenția prezența unei forme activate a complementului, așa-zisul complex de atac al membranei (C5b-9) la suprafața celulelor lezate din placa ateromatoasă (50).

Complexele imune conținând LDL activează și macrofagele care eliberează citokine și anioni superoxid inducând, la rândul lor, molecule proteice de adeziune în endotelii. Se favorizează astfel extravazarea monocitelor creându-se un cerc vicios.

1.4.7. INTRICĂRI ALE MECANISMELOR ATEROGENICE

Din cele expuse, reiese cu prisosință natura complexă a biochimiei aterosclerozei. Deși diverse teorii insistă asupra primordialității unui anumit mecanism patogenic sau a unei anumite secvențe a evenimentelor implicate în aterogeneză, tendința actuală este de a se considera ateroscleroza ca fiind un răspuns al peretelui vascular la o varietate de agenți inițiatori și că o multiplicitate de mecanisme intricate contribuie la formarea leziunilor aterosclerotice.

Așa de exemplu, particulele de LDL oxidate atrag monocitele, iar formele activate ale acestor celule generează citokine proinflamatorii, prostaglandine și leukotriene care accentuează insudarea de LDL în peretele vascular și totodată favorizează elaborarea de radicali superoxid cu rol în oxidarea particulelor de LDL (54).

Tot așa, celulele spumoase bogate în factor tisular și ajunse în contact cu sângele circulant, ca urmare a perforării unei plăci, activează coagularea, iar trombina rezultată intervine nu doar în fibrinogenare dar și în stimularea proceselor de proliferare și migrare a celulelor musculare netede care sunt prevăzute cu receptori față de trombină (3). Prin acest efect mito-

gen al trombinei combinat cu cel al PDGF eliberat din plăcuțele prinse în microtrombi, se pot explica atât progresiunea aterosclerozei cât și procesul de restenozare progresivă a dilatărilor terapeutice obținute prin angioplastie coronariană transluminală.

Un alt exemplu ilustrativ de intricare a mecanismelor patologice este și asocierea secreției hepatice accelerate de VLDL cu cea de inhibitori ai fibrinolizei și de factor XIII la subiecții cu obezitate abdominală (15,38).

De subliniat că noile achiziții privind rolul proliferării celulelor musculare netede, al intervenției proceselor imune și al formării trombilor murali, nu au diminuat importanța anomaliilor metabolismului lipidic. De altfel, la ora actuală principalele măsuri pentru profilaxia primară și secundară a aterosclerozei, inclusiv tentativele de a "stabiliza" plăcile ateromatoase, sunt reprezentate de terapia hipolipemiantă, de terapia antitrombotică și de încercări de reducere a generării de anioni superoxid.

1.5. BAZELE BIOCHIMICE ALE TERAPIEI HIPOLIPEMIANTE

Indicații majore ale terapiei hipolipemiante sunt: a) pancreatita recurentă (survenită în tipurile I și V); b) prezența xantoamelor; c) profilaxia primară și secundară a aterosclerozei. Trebuie arătat că în multe cazuri un regim dietetic adecvat este în măsură să influențeze în mod favorabil hiperlipidemia, astfel încât tratamentul medicamentos va fi aplicat mai ales în situații în care măsurile dietetice s-au dovedit ineficiente.

1.5.1. MĂSURI IGIENO-DIETETICE

În principiu, regimul igienico-dietetic ar trebui introdus cât mai precoce și pe cât posibil adaptat la mecanismul de producere a hiperlipoproteinemiei. Așa de exemplu, în cazurile de hipertrigliceridemie endogenă asociată obezității androide, regimul dietetic va trebui să ducă la slăbire și va fi nu numai sărac în lipide saturate, dar și hipocaloric, insistându-se asupra reducerii glucidelor rafinate. Se recomandă mese frecvente dar sărace în calorii, conținând mai ales pește, carne slabă, crudități sub formă de salate cu uleiuri vegetale conținând acizi grași polinesaturați. În cazurile de hipercolesterolemie se insistă asupra reducerii consumului de colesterol și grăsimi saturate.

American Heart Association recomandă o dietă în care grăsimile să nu depășească 30% din totalul kaloriilor, raportul între grăsimile saturate și cele nesaturate să fie în jur de 1, iar colesterolul din alimente să fie sub 300 mg/zi (nu mai mult de două gălbenușuri de ou pe săptămână).

Aplicarea unui astfel de regim întâmpină însă dificultăți deoarece: a) mulți subiecți nu aderă cu plăcere la un regim sărac în lipide și destul de insipid; b) nu toți subiecții sunt dispuși să dezvolte hiperlipidemie la o dietă mai variată; c) nu se poate exclude posibilitatea ca un regim prea sărac în lipide să ducă la alte îmbolnăviri; d) nu toți subiecții hiperlipidemici dezvoltă ateroscleroză precoce.

Din acest motiv regimurile stricte vor fi recomandate mai ales subiecților hiperlipidemici în a căror familii s-au semnalat frecvente cazuri de infarct miocardic sau accidente vasculare cerebrale, iar atunci când regimul dietetic nu a dat rezultate satisfăcătoare se va trece la medicația hipolipemiantă.

1.5.2. MEDICAMENTE CU EFECT HIPOLIPEMIANT

Este important de știut că toate medicamentele hipolipemiente au și efecte secundare, că nici unul din aceste medicamente nu este pe deplin eficient în toate tipurile de hiperlipoproteinemie și că la încetarea terapiei medicamentoase anomalile de metabolism lipidic revin. În funcție de principalul lor efect, medicamentele hipolipemiente ar putea fi împărțite în următoarele categorii:

- a. agenți care reduc sinteza de VLDL, ca de exemplu acidul nicotinic;
- b. agenți care accelerează procesele de clearance a trigliceridelor din VLDL, ca de exemplu clofibratul;
- c. agenți care accelerează catabolizarea LDL, așa cum sunt colestiramina și colestipolul;
- d. medicamente care inhibă HMG-CoA-reductaza și frânează sinteza endogenă de colesterol și care sunt reprezentate de diverse așa-zise statine (Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin);
- e. preparate de tipul probucol care previn oxidarea LDL și reduc formarea de celule spumoase.

1.5.2.1. ACIDUL NICOTINIC ȘI ANALOGII SĂI

Preparatele de acid nicotinic (Niconacid, Xavin) reduc sinteza hepatică de VLDL fiind indicate în cazurile în care hiperlipoproteinemia este cauzată prin exagerarea sintezei acestor lipoproteine bogate în trigliceride. De fapt, astfel de preparate s-au dovedit eficiente la subiecți cu obezitate intraabdominală și hipertrigliceridemie (tipurile IIb, III, IV și V).

Mecanismul intim de acțiune constă în potențarea fosfodiesterazei din țesutul adipos și deci în degradarea accelerată a cAMP (vezi Fig. 1.4). Ca urmare se reduce lipoliza trigliceridelor din țesutul adipos intraabdominal și implicit scade fluxul de acizi grași spre ficat, ceea ce se traduce prin scăderea sintezei hepatice de VLDL. Acidul nicotinic este însă contraindicat la subiecți cu afecțiuni hepatice sau cu boală ulceroasă. Aceste preparate pot produce și eriteme, prurit, iritații oculare, fenomene care pot fi atenuate prin administrarea unei tablete de aspirină zilnic. Terapia cu acid nicotinic se începe cu 100 mg de trei ori pe zi în timpul meselor, crescându-se dozele progresiv până la de 3 x 1 g/zi (doza maximă fiind de 9 g/zi).

Analogi sintetici ai acidului nicotinic (Acipimox, Olbetam) exercită efecte hipotrigliceridemiante mai puternice, având efecte colaterale mai reduse și fiind deci mai bine tolerate. În doze de 750-1250 mg/zi (fracționate în timpul meselor) aceste preparate scad cu 30-40% trigliceridele și colesterolul din VLDL, reduc colesterolul din LDL cu aproximativ 20 % și cresc colesterolul din HDL cu 20%. De notat că acidul nicotinic și analogii săi produc și o scădere a apoproteinei B₁₀₀ (22,51). Pe lângă aceste efecte benefice asupra metabolismului lipidic, analogii de acid nicotinic par să reducă rezistența la insulină și să amelioreze toleranța la hidrați de carbon în cazurile de diabet supraponderal noninsulinodependent. Deși, spre deosebire de acidul nicotinic, analogii săi nu produc creșteri ale acidului uric și nici creșteri trecătoare ale transaminazelor, este bine ca aceste examinări să fie efectuate împreună cu explorarea metabolismului lipidic și glucidic la pacienți tratați cu astfel de preparate (35).

1.5.2.2. DERIVAȚII ACIDULUI IZOBUTIRIC (FIBRAȚI)

Primul compus din această categorie utilizat în terapia hiperlipoproteinemiilor a fost clofibratul (acid p-cloro-fenoxiizobutiric). Administrat în doze de 2 x 1 g/zi clofibratul reduce cu

aproximativ 30% trigliceridele și colesterol din VLDL, având o slabă influență asupra colesterolului din LDL și producând o ușoară creștere a HDL colesterolului. Aceleași efecte sunt produse de diverși derivați ai acidului fibric, care sunt bine tolerați și pot fi utilizați în doze mai mici (2 x 450-600 mg/zi în cazul gemfibrozilului, 300-400 mg/zi în cazul fenofibratului, 400 mg/zi în cazul terapiei cu bezafibrat și doar 100 mg/zi pentru ciprofibrat).

Mecanismul de acțiune al fibraților constă din potențarea îndepărtării trigliceridelor din VLDL și implicit din accelerarea catabolizării acestor particule care se transformă în IDL și LDL urmând a fi captate în receptori. Se consideră că acest efect de accelerare a catabolizării VLDL se realizează prin stimularea activității lipoproteinlipazei și mai puțin a lipazei hepatice, atât direct cât și prin intermediul creșterii concentrației de apo C-II. Ca urmare a catabolizării accelerate a VLDL în cursul unei astfel de terapii la un bolnav cu HLP tip IV, se poate ajunge uneori la ușoare creșteri ale LDL care pot fi mai accentuate la subiecții cu un echipament deficitar de receptori pentru LDL. În majoritatea cazurilor, terapia cu fibrați facilitează însă descărcarea colesterolului în ficat și eliminarea lui în bilă. Dacă sinteza de acizi biliari nu ține pasul cu eliminările de colesterol în bilă, se ajunge la dezvoltarea unei bile litogene și la formarea calculilor biliari de colesterol.

Administrate subiecților cu HLP tip IIb și IV, diverșii fibrați produc pe lângă scăderea VLDL și o accelerare a fibrinolizei, o scădere a fibrinogenemiei și a factorului XIII precum și o tendință de normalizare a hiperreactivității plăcuțelor sanguine. Toate aceste efecte sunt în măsură să explice reducerea incidenței sindroamelor coronariene constatată în studii prospective la bolnavii hiperlipemici tratați cu fibrați (22,51). Pe de altă parte, clofibratul, și în mai mică măsură derivații de acid fibric, par să favorizeze apariția litiazei biliare, iar în unele cazuri afectează musculatura producând astenie, mialgie și chiar fenomene de miopatie cu creșterea nivelului seric al creatinfosfokinazei (CK). Controlul de laborator al terapiei ar trebui să vizeze și aceste aspecte putând uneori surprinde și creșteri tranzitorii ale transaminazelor (44).

1.5.2.3. SECHESTRANȚI AI ACIZILOR BILIARI (COLESTIRAMINA ȘI COLESTIPOLUL)

Acești agenți terapeutici sunt rășini schimbătoare de ioni care, având numeroase grupări electropozitive, leagă în intestin acizii biliari electronegativi, împiedicând reabsorbția lor și blocând circuitul enterohepatic al acestora. Ca urmare a depleției în acizi biliari, scăzând astfel conținutul de colesterol al hepatocitelor. În consecință, celulele hepatice își cresc numărul de receptori pentru LDL (și IDL) potențându-se astfel captarea și degradarea acestor particule lipoproteice.

Pe de altă parte, scăderea colesterolului din hepatocite duce la dereprimarea HMG-CoA reductazei și la creșterea sintezei hepatice de colesterol. Deși efectul benefic al creșterii numărului de receptori este parțial contracarat de creșterea sintezei de colesterol, preparatele de colestiramină (Questran, Cuemid) luate în doze de 3 x 5 g până la 3 x 8 g/zi sau cele de colestipol (3 x 5g până la 3 x 10 g/zi) produc o scădere cu 20-30% a colesterolemiei, în timp ce trigliceridele serice pot crește ușor. Ca urmare, aceste medicamente sunt indicate mai ales în cazul heterozigoților cu hipercolesterolemie familială (HLP tip II a) iar efectul hipocolesterolemiant este potențat de asocierea cu inhibitori de HMG-CoA reductază (vezi mai jos). De notat că sechestranții de acizi biliari (colestiramină, colestipol) se dau sub formă de pastă cu apă sau suc în timpul meselor și că aceste preparate împiedică și absorbția acidului folic.

a vitaminelor liposolubile precum și a unor medicamente cum sunt digoxina, tiroxina, anti-taminele K și fibratii. Se recomandă deci ca preparatele de colestiramină să nu se administreze concomitent cu alte medicații. Alte efecte colaterale ale secheștrantilor de acizi biliari constau în senzația de plenitudine abdominală, constipație și greață (40,51).

1.5.2.4. INHIBITORI DE HMG-COA REDUCTAZĂ (STATINE)

Aceste medicamente introduse relativ recent în terapia hipercolesterolemilor s-au dovedit deosebit de eficiente în accelerarea elaborării de receptori pentru LDL și implicit în favorizarea degradării acestor particule. Diversii inhibitori de HMG-CoA reductază au o structură similară cu HMG-CoA, substratul reductazei, și inhibă prin mecanism competitiv activitatea enzimei, substituindu-se substratului în centrul activ al enzimei. Ca urmare a scăderii sintezei de colesterol și a reducerii conținutului de colesterol al celulei, se elaborează în cantități sporite receptori care captează LDL din lichidul extracelular, scăzând numărul acestor particule din circulație și furnizând colesterol celulelor.

Laboratorul evidențiază o scădere cu 20-40% a colesterolului și o scădere mai discretă a trigliceridelor.

S-au elaborat o serie de compuși cu structură și mecanism de acțiune similare și denumiri ca Lovastatin, Simvastatin. Pravastatin cunoscute și sub denumiri comerciale ca Zocor sau Denan. Dozele administrate sunt de 20-80 mg/zi în cazul preparatelor de lovastatin și de 10-40 mg/zi pentru celelalte statine.

Efectele secundare survin extrem de rar și constau din suferințe ale musculaturii (uneori evoluând cu creșteri ale CK) și creșteri tranzitorii și asimptomatice ale transaminazelor (5,22,,51).

De subliniat că asocierea acestor medicamente cu secheștrantii de acizi biliari (colestiramină) s-a dovedit deosebit de eficientă în tratarea heterozigoților cu hipercolesterolemie familială (41) (vezi Fig. 1.17).

1.5.2.5. PROBUCOLUL

Întrucât administrarea orală de probucol (2 x 500 mg/zi) produce nu numai o scădere a colesterolului din LDL (cu aproximativ 20%) dar și a colesterolului din HDL (cu 30%), utilizarea acestui compus a fost privită inițial cu multă rezervă. Studii ulterioare, extinse pe o perioadă de 10 ani, sugerează însă că probucolul ar putea deschide o nouă eră în strategia combaterii farmacologice a aterosclerozei, putând produce nu numai o întârziere a dezvoltării plăcilor ateromatoase dar chiar și o regresie a leziunilor (23).

Având o structură similară hidroxitoluenului dibutilat, probucolul este liposolubil și este dotat cu proprietăți antioxidante. Ca urmare, probucolul se include în particulele de LDL și previne oxidarea acestora în peretele arterial. Se reduce astfel efectul chemotactic al LDL oxidate față de monocite și implicit se limitează formarea de celule spumoase. Colesterolul din particulele LDL, pătrunse în peretele arterial dar neoxidate și neincluse în macrofage, poate fi preluat de către HDL și transportat în revers spre ficat. Se pare că probucolul favorizează și acest proces, iar scăderea nivelului de HDL colesterol în cursul acestei medicații este interpretată ca fiind dată de o accelerare a captării hepatice a încărcăturii lipidice din HDL2, probabil în legătură cu stimularea de către probucol a activității lipazei hepatice. Prevenirea oxidării LDL și facilitarea transportului în revers a colesterolului (41) sunt în măsură să explice regresia aterosclerozei în urma terapiei cu probucol (23).

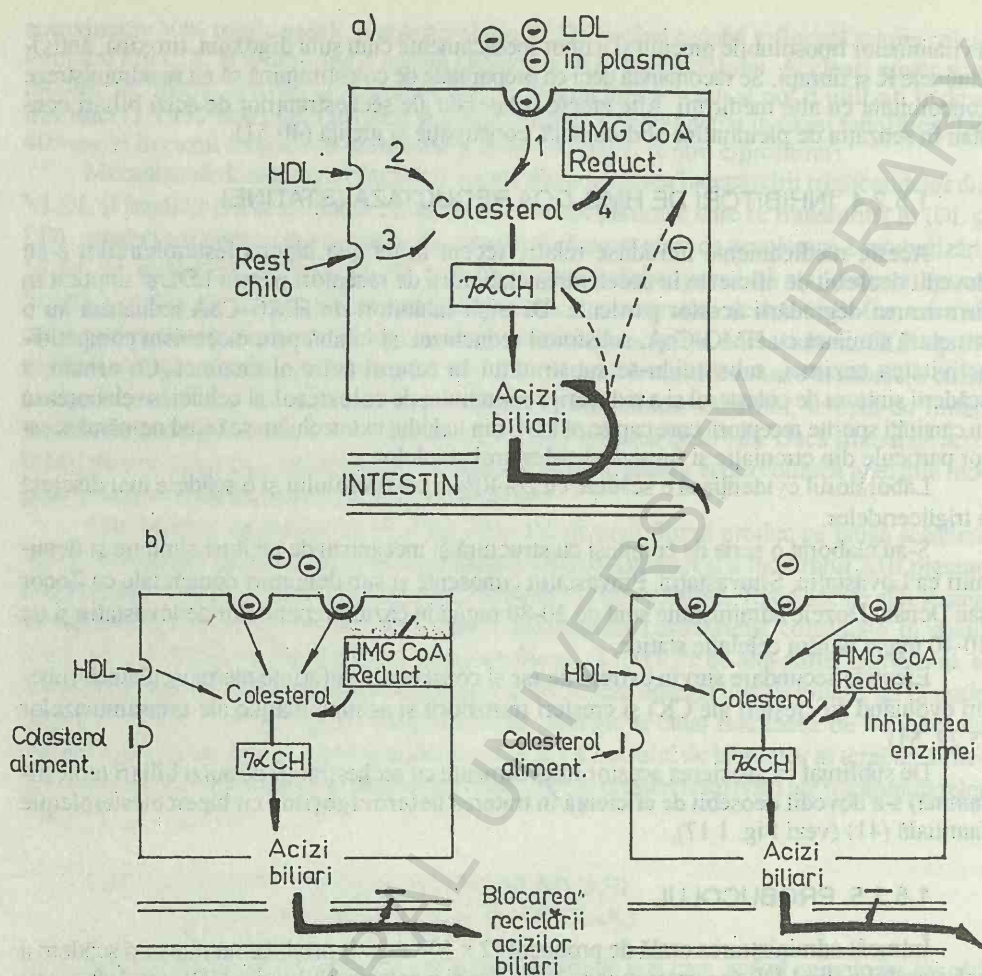


Fig.1.17. Principii de terapie în cazurile de hipercolesterolemie familială (heterozigoți) prin tentative de creștere a numărului de receptori pentru LDL.

a) La subiectul netratat colesterolul din hepatocite poate proveni: 1) din captarea IDL și LDL (relativ inefficient în astfel de cazuri); 2) din captarea colesterolului din HDL; 3) din colesterolul alimentar furnizat prin captarea resturilor de chilomicroni; 4) prin sinteză endogenă, proces în care enzima cheie este HMG-CoA-reductază. O bună parte a colesterolului hepatic se transformă în acizi biliari care se elimină prin bilă în intestin, fiind însă reabsorbiți în proporție de 95% exercitând un efect de feedback negativ (⊖) și reprimând atât 7 α -colesterol hidroxilaza (7 α CH) enzima cheie în sinteza acizilor biliari cât și HMG-CoA reductaza.

b) Prin reducerea aportului de colesterol alimentat și mai ales prin blocarea reabsorbției acizilor biliari cu colestiramină sau colestipol și implicit prin accelerarea transformării colesterolului hepatic în acizi biliari, se tinde la scăderea colesterolului din hepatocite, ceea ce crește sinteza de receptori având drept rezultat o mai bună captare a particulelor de LDL din plasmă. Acest efect este însă parțial contracarat de dereprimarea HMG-CoA reductazei și de accelerarea consecutivă a sintezei endogene de colesterol.

c) Administrând un inhibitor competitiv al HMG-CoA reductazei, (lovastatin, simvastatin, pravastatin) se amplifică producerea de receptori și captarea de LDL al căror nivel va scădea în plasmă.

Tabel 1.8.

Indicații dietetice și medicamentoase în funcție de tipul de hiperlipoproteinemie

Tip	Indicații dietetice	Medicație hipolipemiantă
I	Reducerea grăsimilor (sub 30 g/zi); Se admit grăsimi conținând acizi grași cu lanț mediu de atomi de carbon	-
II a	Reducerea consumului de alimente bogate în colesterol și grăsimi saturate (de origine animală); Se recomandă alimente bogate în reziduuri vegetale și grăsimi nesaturate	Colestiramină, colestipol; Inhibitori de HMG-CoA reductază (statine)
III	Slăbire; Reducerea consumului de colesterol și de grăsimi saturate; Reducerea zaharurilor rafinate; Evitarea alcoolului	Gemfibrozil, acid nicotinic. Analogi de acid nicotinic; Inhibitori de HMG-CoA reductază
II b-IV	Slăbire; Reducerea consumului de colesterol și de grăsimi saturate; Evitarea alcoolului; Regim bogat în proteine și uleiuri vegetale	Acid nicotinic și analogi ai acestuia. Gemfibrozil; Inhibitori de HMG-CoA reductază
V	Slăbire; Reducerea grăsimilor saturate și a zaharurilor rafinate; Evitarea alcoolului; Regim hiperprotidic	Tătonarea cu acid nicotinic, gemfibrozil

1.5.2.6. ALTE MEDICAMENTE CU EFECT HIPOLIPEMIANT

Există multe alte preparate cu efecte hipolipemiante, dar care nu sunt utilizate pe scară largă. Așa de exemplu administrarea pe cale orală a antibioticului **neomicină** (2 x 1 g/zi) a dus la o scădere cu 21% a colesterolului la pacienții cu hipercolesterolemie familială. Chiar și **benzodiazepinele** s-au dovedit a avea un modest efect hipolipemiant. Scăderi ale colesterolului din LDL s-au obținut prin administrarea de D-tiroxină dar aceste efecte au fost contrarate de creșterea nevoilor de oxigen ale miocardului sub efectul D-tiroxinei, care, deși mai slab decât în cazul L-tiroxinei, nu este neglijabil.

Orice terapie hipolipemiantă trebuie asociată unui regim igienico-dietetic adecvat, cu renunțarea la fumat și cu terapia unei eventuale hipertensiuni arteriale (vezi Tabel 1.8).

ADDENDUM

În timp ce manuscrisul se afla în Editură (așteptând sponsorizările) ne-au parvenit date care aruncă o nouă lumină asupra fiziopatologiei țesutului adipos și a mecanismelor implicate în rezistența la insulină a acestui țesut, cu implicații în patogeniza sindromului metabolic și a hiperlipidemiei familiale combinate (FCHL).

S-a demonstrat astfel existența unui sistem care include o proteină stimulatorie a acilării (adipsin acylation stimulating protein, ASP) prin care se facilitează reesterificarea acizilor grași în țesutul adipos.

În disfuncția căii mediate de ASP, hidroliza trigliceridelor din adipocite, indusă de stimulări adrenergice, nu ar fi contracarată de o reesterificare a acizilor grași, soldându-se cu o eliberare excesivă de acizi grași liberi (60,61). Este evident că o astfel de disfuncție a mecanismelor dependente de ASP, se validează de o manieră mult amplificată în cazul subiecților cu obezitate androidă și o reactivitate exagerată a beta 3-adenoreceptorilor din țesutul adipos intraabdominal (38). Eliberarea în exces a acizilor grași (AGL) creează o rezistență față de insulină (62) iar factorul de necroză tumorală- (TNF- α) din țesutul adipos mediază această rezistență, reducând capacitatea de sensibilitate a receptorilor pentru insulină (63,64).

Obezitatea intraabdominală, deficitul pe calea mediată de ASP și creșterea expresiei TNF- α în țesutul adipos (și mai ales asocierea acestor anomalii) ducând la exagerarea mobilizării de AGL, se soldează cu o serie de efecte adverse realizând rezistența la insulină în țesutul adipos și în cel muscular, iar la nivelul ficatului se induce sinteza de trigliceride și apo B₁₀₀, incluse în VLDL precum și stimularea sintezei unor factori ai coagulării, a inhibitorilor fibrinolizei și a fibronectinei (15,65). Se ajunge astfel la aspecte umorale caracteristice hiperlipidemie familiale combinate și sindromului metabolic.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Achenbach, H., Kühn, J.H., Lössner, I., Seim, H. Klinische Anwendung des Carnitins unter besonderer Berücksichtigung des Carnitinmangels. *Wiss.Z.Karl-Marx Univ.Leipzig, Math. Naturwiss. R.*, 1985, 34, 3, 259-272.
2. Alexander, R.W. Inflammation on coronary artery disease. *N.Engl.J.Med.* 1994, 331, 468-469.
3. Baykal, D., Schmedtje, J.F., Runge, M.S. Role of the thrombin receptor in restenosis and atherosclerosis. *Am.J.Cardiol.* 1995, 75, 82 B-87B.
4. Bevilacqua M.P., Gimbrone, M.A. Inducible endothelial functions in inflammation and coagulation. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 1987, 13, 425-433.
5. Blum, C.B. Comparison of properties of four inhibitors of 3-hydroxi-3-methyl-glutaril-coenzyme A reductase. *Amer. J. Cardiol.* 1944, 73, 3D-11D.
6. Boyd, G.S., Craig I.F. *Biochemistry of degenerative vascular disease in Williams and Marks (Editors). Biochemistry in Clinical Practice.* William Heinemann Medical Books Limited. London 1983 pp.457-473.
7. Breckenridge, W.C., Little, J.A., Steiner, G., Chow, A., Poapst, M. Hypertriglyceridemia associated with a deficiency of apolipoprotein C II. *N.Engl.J.Med.* 1978, 298, 1265-1273.
8. Brown M.S., Goldstein J.L. Familial hypercholesterolemia: A genetic defect in the low density lipoprotein receptor. *N.Engl.J.Med.* 1976, 294, 1386-1390.
9. Brown M.S., Goldstein J.L. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Ann.Rev.Biochem.* 1983, 52, 252-261.
10. Chait, A. Secondary hyperlipidemia. *J.Clin.Path.*, 1973, 26 suppl. 5, 69-71.
11. Colman, R.W. Platelet function in hyperbetalipoproteinemia. *Thromb. Haemostas.* 1978, 39, 284-303.
12. Cucuianu, A., Malide, D., Petrov, L., Pațiu, M., Vlaicu, S., Cucuianu, M. Serum cholesterol and apoprotein B levels and serum cholinesterase activity in selected hematologic malignancies. *Rev.Roum.Med.Int.* 1992, 30, 261-268.
13. Cucuianu, M., Deac, M., Bornuz, F., Macavei, I. Effect of L-asparaginase therapy upon some indices of protein metabolism in leukemic patients. *Rev.Roum.Med.Int.* 1973, 10, 121-131.
14. Cucuianu, M., Rus, H.G., Niculescu, D., Vonica, A. *Biochimie.Aplicatii clinice.* Ed.Dacia Cluj-Napoca, 1991.

15. Cucuianu, M., Trif, I., Cucuianu, A. Hemostaza. Biochimie. Fiziopatologie clinică. Ed. Dacia Cluj-Napoca, 1994.
16. Demant, Th., Shepherd, I., Packard, C.J. Very low density lipoprotein apolipoprotein B metabolism in humans. *Klin wscr.*, 1988, 66, 703-712.
17. Falk, E., Fernandez-Ortiz, A. Role of thrombosis in atherosclerosis and its complications. *Am.J.Cardiol.*, 1995, 75, 5 B-11 B.
18. Goldstein, I.L., Brown, M.S. The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Ann.Rev.Biochem.*, 1977, 46, 897-930.
19. Fredrickson, D.S., Levy, R.I., Lees, R.S. Fat transport in lipoproteins - an integrated approach to mechanisms and disorders. *N.Engl.J.Med.* 1967, 276, 34-44; 94-103; 148-156; 215-225; 273-281.
20. Gimbrone, A. Vascular endothelium, an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. *Am.J.Cardiol.*, 1995, 75, 67 B-70 B.
21. Gresham, G.A., Howard, A.N., McQueen, J.M., Bowyer, D.E. Atherosclerosis in primates. *Brit.J.Exptl.Pathol.*, 1965, 46, 94-103.
22. Grundy, S.M. Atherogenic dyslipidemia. Lipoprotein abnormalities and implication. *Am.J.Cardiol.*, 1995, 75, 45 B-52 B.
23. Gwynne, I.T., Schwartz, C.I. (Guest Editors). A symposium: Hypercholesterolemia and the probucol experience. *Amer.J. Cardiol.* 1988, 62, nr.3 (incluzând o serie de articole pp.1 B-81B).
24. Harrison, D.G., Ohara, Y. Physiologic consequence of increased vascular oxidant stress in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Amer.J.Cardiol.*, 1995, 75, 75 B-81 B.
25. Havel, R.J. Role of the liver in atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, 1985, 5, 569-580.
26. Howard, G.C., Pizzo, S.V. Biology of disease. Lipoprotein (a) and its role in atherothrombotic disease. Laboratory investigation 1993, 69, 373-386.
27. Herbert, P.M., Assman, G., Gotto, A.M., Fredrickson, D.S. Familial lipoprotein deficiency: abetalipoproteinemia, hypobetalipoproteinemia and Tangier disease in Stanbury, Wyngaarden, Fredrickson, Brown (Editors). The metabolic basis of inherited disease Mc Graw-Hill, New York, 1982, 598-651.
28. Kannel, W.B., Costelli, W.P., Gordon, T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. *Ann.Intern.Med.* 1979, 90, 85-91.
29. Katz, L.N., Stamler, J. Experimental atherosclerosis. C.C.Thomas Springfield 1953, 3-5.
30. Keys, A., Taylor, H.L., Bleckburn, H., Brozek, J., Anderson, J.T., Simonson, E. Coronary heart disease among Minnesota business and professional men followed fifteen years. *Circulation* 1963, 28, 381-395.
31. Kita, T., Brown, M.S., Billheimer, D.W., Goldstein, J.L. Delayed clearance of very low density and intermediate density lipoprotein with enhanced conversion to low density lipoprotein in WHHL rabbits. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 1982, 79, 5693-5697.
32. Kissebah, A.H., Alfarsi, S., Adams, P.W. Integrated regulation of very low density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B kinetics in man: normolipemic subjects, familial hypertriglyceridemia and familial hyperlipidemia. *Metabolism* 1981, 30, 865-868.
33. Krauss, R.M., Dense low density lipoproteins and coronary artery disease. *Am.J.Cardiol.* 1995, 75, 53 B-57 B.
34. Lamb, R.J., Fallon, H.J. An enzymatic explanation for dietary induced alteration in hepatic glycerolipid metabolism. *Biochim.Biophys.Acta* 1974, 338, 179-188.
35. Lavezzari, M., Milanesi, E., Oggioni, E., Pamparana, F. Results of a phase IV study carried out with acipimox in type II diabetic patients with concomitant hyperlipidaemia. *J.Internat.Med.Res.* 1989, 17, 373-380.
36. Libby, P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 1995, 91, 2844-2850.
37. Linder, M.E., Gilman, A.G. G-Proteins. *Scientific American* 1992, 267, 56-65.
38. Lönnqvist, F., Thörne, A., Nilzell, K., Hoffsted, J., Amer, P. A pathogenic role of visceral fat beta 3-adrenoreceptors in obesity. *J.Clin.Invest.* 1995, 95, 1109-1116.
39. Mayes, P. Metabolism of lipids in Harper H.A. (Editor). Review of Physiological Chemistry 14th edition Lange Med Publ. Los Altos, Calif. 1973, 268-310.

40. Mabuchi, H., Sakay, T., Yoshimura, A., Watanabe, A., Wakasugi, T., Koizumi, J., Takeda, R. Reduction of serum cholesterol in heterozygous patients with familial hypercholesterolemia. Additive effects of compactin and cholestyramine. *N.Engl.J.Med.* 1983, 308, 609-613.
41. Matuzawa, Y., Yamashita, S., Funahashi, T., Yamamoto, A., Tarni, S. Selective reduction of cholesterol, in HDL₂ fraction by probucol in familial hypercholesterolemia and hyper HDL₂ cholesterolemia with abnormal cholesteryl ester transfer. *Amer.J.Cardiol.* 1988, 62, 66 B-72 b.
42. Minick, C.R., Alonso, D.R., Rankin, L. Role of immunologic arterial injury in atherogenesis. *Thromb.Haemostas.* 1978, 39, 304-311.
43. Moga, A., Hărăguș, S. *Ateroscleroza* Ed.Academiei RPR, București, 1963.
44. Monk, J.F., Todd, P.A. Bezafibrate: A Review. *Drugs*, 1987, 33, 539-576.
45. Nikkila, E.A. Metabolism of plasma triglycerides in endogenous hypertriglyceridemia in Greten, levine, Pfeiffer, Renold (Editors). *Lipid metabolism, obesity and diabetes mellitus. Impact upon atherosclerosis.* Ed.G.Thieme, Stuttgart 1974, 29-34.
46. Norum, K.P., Gjone, E. Familial plasma lecithin:cholesterol acyl transferase deficiency. Biochemical study of a new inborn error of metabolism. *Scad.J.Clin.Lab.Invest.* 1967, 20, 235.
47. Norum, P.A., Lakier, J.B., Goldstein, S., Angel, A., Goldberg, R.B., Black, W.D., Noffze, D.K., Dolphin, P.J., Edelglass, J., Bagorad D.D., Alaupovic, P. Familial deficiency of apolipoprotein A-I and C-III and precocious artery disease. *N.Engl.J.Med.* 1982, 306, 1513-1514.
48. Okazaki, M., Zhang, H., Yoshida, Y., Ichino, K., Nakayama S., Oguchi, K. Correlation between plasma fibrinogen and serum lipids in rats with hyperlipidemia induced by cholesterol free high fructose or high cholesterol diet. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.* 1994, 40, 479-489.
49. Rosenfeld, L. Atherosclerosis and the cholesterol connexion. Evolution of a clinical application. *Clinical Chemistry*, 1989, 35, 521-531.
50. Rus, H.G., Niculescu, F., Constantinescu, E., Cristea, A., Vlaicu, R. Immunoelectron microscopic localization of the terminal C5b-9 complement complex in human atherosclerotic fibrous plaque. *Atherosclerosis*, 1986, 61, 35-42.
51. Schaffer, E.J., Levy, R.I. Pathogenesis and management of lipoprotein disorders. *N.Engl.J.Med.* 1985, 312, 1300-1310.
52. Simons, L.A. Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary heart disease mortality in 19 countries. *Am.J.Cardiol.* 1986, 57, 5G-10G.
53. Stamler, J. Review of primary prevention trials of coronary heart disease. *Acta Med.Scand.* 1985 suppl. 701, 100-128.
54. Steinberg, S., Parthasaray S., Carew, T.E., Khoo, I.C., Witztum, I.L. Beyond cholesterol. Modification of low density lipoprotein that increase atherogenicity. *N.Engl.J.Med.* 1989, 320, 915-924.
55. Tybjaerg-Hansen, A., Humphries, S.E. Familial defective apolipoprotein B₁₀₀: a single mutation that causes hypercholesterolemia and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1992, 96, 91-107.
56. Utermann, C., Jaeschke, M., Menzel, J. Familial hyperlipoproteinemia type III; deficiency of a specific apolipoprotein (Apo E-III) in the very low density lipoproteins. *FEBS Lett.* 1975, 56, 352-355.
57. Vitolis, S., Angelin, B., Ericsson, S., Gahrton, G. Uptake of low density lipoproteins by human leukemic cells in vivo: relation to plasma lipoprotein levels and possible relevance for selective chemotherapy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990, 87, 2598-2602.
58. Walker, W.J. Changing US life Style and declining vascular mortality: a retrospective. *Editorial N. Engl. J.Med.* 1983, 308-649-651.
59. Young, S.G., Hubl, V.T., Chappel, O.A., Schmidt, R.S., Claiborne, R.S., Snyder, S.M., Terdiman, J.F. Familial hypobetalipoproteinemia associated with a mutant species of apolipoprotein B (B46). *N. Engl. J.Med.* 1989, 320, 1064-1610.
- Adaos
60. Baldo, A., Sniderman, A.P., St.Luce, S., Avramoglu, R.K., Maslowska, M., Hoang, B., Monge, J.C., Bell, A., Mulay, S., Cianflone, K. The adipsin acylation stimulating protein system and regulation of intracellular triglyceride synthesis. *J.Clin.Invest.* 1993, 92, 1543-1547.

61. Cianflone, K., Maslowska, M., Sniderman, D. Impaired response in fibroblasts in patients with hyper-beta lipoproteinemia to acylation stimulating protein. J.Clin.Invest. 1990, 85, 722-730.
62. Boden, G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance in NIDDM. Diabetes, 1997, 45, 3-10.
63. Hotamisligil, G.G., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L., Spiegelman, B.M. Increased adipose expression of TNF- α in human obesity and insulin resistance. J.Clin.Invest. 1995, 95, 2408-2415.
64. Teoman-Uysal, K., Wiesbroek, S.M., Marino, M.W., Hotamisligil, G.S. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. Nature 1997, 389/9: 610-614.
65. Cucuianu, M., Bodizs, G., Duncea, I., Colhon, D. Plasma fibronectin in overweight men and women: correlation with serum triglyceride levels and serum cholinesterase activity. Blood Coagulation and Fibrinolysis, 1996, 7, 779-785.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliți corespondența între enzimele de mai jos și procesele metabolice pe care le favorizează:

- | | |
|---|--|
| A. Lipaza hormonodependentă | I Mobilizarea lipidelor din țesutul adipos |
| B. Lipoproteinlipaza | II Sinteza colesterolului |
| C. HMG-CoA reductaza | III Hidroliza trigliceridelor din chilomicroni și din VLDL |
| D. Lecithin: colesterol acil-transferaza (LCAT) | IV Esterificarea colesterolului în celule |
| E. Acil-CoA-colesterol acil transferaza (ACAT) | V Esterificarea colesterolului în plasmă |

2. Stabiliți corespondența dintre apolipoproteinele de mai jos și semnificația lor funcțională:

- | | |
|-------------------------|---|
| A. Apo A ₁ | I Unitate prin care sunt recunoscute resturile de chilomicroni în receptorii hepatici |
| B. Apo B ₁₀₀ | II Cofactor al LCAT |
| C. Apo B ₄₈ | III Unitate prin care sunt recunoscute specifice particulele de LDL de către receptorii din ficat și din țesuturile extrahepatice |
| D. Apo E | IV Cofactor al lipoproteinlipazei |
| E. Apo C II | V Întârzie o hidroliză prea rapidă a trigliceridelor și a captării resturilor de chilomicroni |
| F. Apo C III | VI Accelerează captarea resturilor de chilomicroni și a resturilor de VLDL. |

3. Creșterea colesterolmiei și a betalipoproteinelor (LDL) la un caz de hipercolesterolemie familială (tip IIa) se poate datora:

- A. unui deficit de lipoproteinlipază
- B. unui deficit de apo C III
- C. unui deficit de receptori apo B₁₀₀/apo E
- D. unei mutații în apo B₁₀₀ (3500 Arg-Gln)
- E. toate aceste defecte moleculare
- F. nici unul

4. Stabiliți corespondența între anumite lipoproteine "particulare" și semnificația lor:

- | | |
|--|---|
| A. beta-VLDL
(beta lată,
beta care flotează) | I lipoproteină bogată în colesterol neesterificat și lecitină care apare în plasma bolnavilor cu colestază (mai ales extrahepatică) și la cei cu deficit familial de LCAT |
| B. lipoproteina X (LpX) | II alcătuită din rest VLDL și rest chilomicroni survine; la subiecți cu disbetalipoproteinemie (HLP tip III) |
| C. lipoproteina (a) | III migrează cu prebeta dar la ultracentrifugare se comportă ca LDL. De fapt, este o particulă LDL care mai conține o apoproteină care îi conferă o aterogenitate sporită |

5. Stabiliți corespondența între defectele moleculare de mai jos și entitățile cărora le corespund:

- | | |
|--|--|
| A. Anomalia apo E ₂ /E ₂ | I Hipercolesterolemie familială (tip II a) |
| B. Deficit de lipoprotein-lipază sau de apo C II | II Disbetalipoproteinemie (tip III) |
| C. Deficit de receptori apo B ₁₀₀ /apo E sau mutație în apo B ₁₀₀ (3500 Arg→Gln) | III Hiperchilomicronemie (tip I) |
| D. Accelerarea sintezei de VLDL inclusiv a apo B ₁₀₀ (scăderea raportului colesterol/apo B) | IV Hiperlipidemie familială combinată (mai ales tipurile II b și IV) |

6. Care din hormonii de mai jos limitează procesul de mobilizare a lipidelor din țesutul adipos:

- A. Adrenalina
- B. Noradrenalina
- C. Tiroxina
- D. Cortizolul
- E. Insulina

7. Care din particularitățile biochimice și funcționale de mai jos se întâlnesc cu precădere la un subiect cu obezitate intraabdominală (omentală, de tip android):

- A. O susceptibilitatea crescută a receptorilor adrenergici beta 3
- B. Un flux crescut de acizi grași liberi spre ficat
- C. O secreție accelerată de VLDL
- D. Creșterea activității colinesterazei serice și a nivelelor plasmatice de factor XIII, inhibitori ai activării plasminogenului (PAI-I) și fibronectină
- E. O rezistență crescută a tesuturilor extrahepatice la insulină și un oarecare grad de hiperinsulinism
- F. Toate aceste modificări survin frecvent
- G. Nici una nu poate fi legată patogenie de obezitatea androidă.

8. Stabiliți corespondența între preparatele medicamentoase de mai jos și mecanismul lor de acțiune:

A. Acid nicotinic și analogi (Olbetam, Acipimox)	I -	Leagă acizii biliari în intestin sub formă neabsorbabilă și stimulează transformarea colesterolului în acizi biliari
B. Colestiramina și colestipolul	II -	Inhibă HMG-CoA reductaza și reduce sinteza de colesterol
C. Fibrăți (Clofibrat, Gemfibrozil)	III -	Reduce secreția hepatică de VLDL
D. Statine (Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin, Zocor, Denan)	IV -	Limitează oxidarea LDL și favorizează transportul în revers al colesterolului
E. Probucol	V -	Accelerează delipidarea VLDL

9. O scădere a colesterolului sub 50 mg/dl la un bolnav cu manifestări neurologice și steatoză poate fi atribuită:

- A. unui hipotiroidism
- B. unui sindrom nefrotic
- C. unei abetalipoproteinemii (acantocitoză)
- D. toate aceste situații
- E. nici una

10. Care din compușii de mai jos poate produce ficat gras prin perturbarea sintezei de proteine (și de apoproteine) și prin blocarea exportului de VLDL din ficat:

- A. Metionina
- B. Vitamina B₁₂
- C. Acidul aspartic
- D. Puromicina

11. Stabiliți corespondența între deficitul genetic al unor activități enzimatice și consecințele pe plan clinic și de laborator:

A. Deficit familial de LCAT	I	Hipertrigliceridemie - hiperchilomicronemie; atacuri recurente de pancreatită
B. Deficit familial de lipoproteinlipază	II	Scăderea esterilor de colesterol, creșterea colesterolului liber și a lecitinei cu formarea de Lp X, opacifierea corneei, insuficiență renală, anemie hiporegenerativă, hematii în fîntă
C. Deficit familial de colesteresterhidrolază	III	Supraîncălcarea țesuturilor cu esteri de colesterol, calcifierea glandelor suprarenale, evoluție letală; fără modificări ale lipoproteinelor serice
D. Deficit de Carnitin-palmitil-aciltransferază	IV	Acumularea de trigliceride în musculatură, miopatie; creșterea trigliceridelor serice cu aspect de HLP tip IV

12. Creșterea acizilor grași liberi (AGL) în plasmă poate fi consecința unei:

- A. Lipolize accelerate în țesutul adipos
- B. Unei reesterificări diminuate
- C. Ambele procese
- D. Nici unul

13. O placă aterosclerotică "vulnerabilă" poate fi o consecință a următoarelor procese:

- A. Un proces inflamator moenit și prezența de limfocite T care produc IFN- γ
- B. Unei diminuări a producerii de collagen și proteoglicani de către celulele musculare netede
- C. Unei degradări sporite a matricei conjunctive a capsulei fibroase a plăcii ateromatoase de către unele metaloproteaze produse de macrofage
- D. Toate aceste mecanisme sunt implicate în destabilizarea unei plăci ateromatoase
- E. Procesele amintite nu sunt relevante pentru patogeniza sindroamelor coronariene instabile.

14. Complicațiile trombotice ale aterosclerozei se datoresc:

- A. Unei fisurări a unei plăci ateromatoase vulnerabile
- B. Unui dezechilibru sistemic între factorii procoagulanti și mecanismele anticoagulante
- C. Unei diminuări a activității sistemului fibrinolitic
- D. Unei hiperreactivități a plăcuțelor sanguine
- E. Toate aceste anomalii contribuie
- F. Nu există dovezi că formarea de trombi ar interveni în progresiunea aterosclerozei și în determinarea complicațiilor majore ale acesteia

15. Deficitul de apo C II se soldează cu hipertrigliceridemie deoarece această apoproteină este cofactor al lipoproteinlipazei.

16. Mutația 3500 Arg \rightarrow Gln în molecula de apo B₁₀₀ duce la o acumulare de particule LDL în sânge deoarece hipercolesterolemia familială (tip II a) este aterogenă.

17. Terapia cu probucol poate duce la o regresie a plăcii ateromatoase deoarece acest medicament inhibă lipoproteinlipaza.

18. Obezitatea abdominală (androidă) nu prezintă risc de cardiopatie ischemică și diabet zaharat deoarece grăsimea intraabdominală este foarte rezistentă la lipoliza indusă de catecolamine.

19. Statinele opresc reabsorbția acizilor biliari din intestin deoarece au o structură analoagă cu HMG-CoA, substratul HMG-CoA reductazei.

20. Pancreatita acută poate surveni la bolnavii obezi și hipertrigliceridemici deoarece supragreutatea de tip abdominal se însoțește de regulă de o creștere a colinesterazei serice

Cheia la întrebările 15-20:

- A. Ambele afirmații corecte și legate cauzal
- B. Ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
- C. Prima afirmație corectă, a doua incorectă
- D. Prima afirmație incorectă, a doua corectă
- E. Ambele afirmații incorecte.

2. BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE EXPLORĂRII PROTEINELOR PLASMATICE

Proteinele plasmatice alcătuiesc aproximativ 75% din reziduul uscat al plasmei. Grație combinării metodelor moderne de filtrare în gel, ultracentrifugare, cromatografie și mai ales cromatografie de afinitate, precum și prin separarea electroforetică cu precipitare la punctul izoelectric s-a reușit obținerea în stare purificată a peste 90 de proteine plasmatice.

Prin injectarea animalelor de experiență (iepure, cal, capră) cu proteinele purificate s-au obținut antiseruri care permit dozări imunochimice cu mare sensibilitate, precizie și specificitate.

Pentru proteinele a căror concentrație plasmatică depășește 1 mg/l se pot utiliza metode de evaluare relativ simple cum sunt imunodifuziunea radială (Mancini), electroimunodifuziunea (Laurell) sau nefelometria. Sub concentrația amintită mai sus se va recurge la metode mai sensibile cum sunt cele radioimunologice (RIA) sau imunoenzimatic (ELISA). Detalii asupra acestor metode pot fi găsite în tratate privitoare la tehnicile de laborator și au fost descrise succint într-un volum editat anterior (1).

Ca urmare a progreselor amintite, separarea electroforetică a proteinelor plasmatice în cinci fracțiuni este astăzi depășită și are doar valoare orientativă. Pentru a ilustra cele afirmate mai sus se redau comparativ în tabelele 2.1a și 2.1b, rezultatele obținute cu un ser normal la electroforeza pe hârtie sau în gel de agaroză, practicate de rutină, și multiplicitatea de proteine plasmatice aflate în fiecare din cele cinci fracțiuni electroforetice.

Din cauza limitării spațiului, se vor prezenta doar proteinele plasmatice cu importanță funcțională și relevanță pentru diagnostic. Proteinele plasmatice cu rol în coagulare și fibrinoliză au fost prezentate într-o monografie publicată anterior (2) iar cele implicate în procesele imune nu sunt relatate în mod detaliat.

Tabel 2.1.a

Valori procentuale și în g/dl ale fracțiunilor electroforetice ale proteinelor serice

Fracțiunea	Valori procentuale*	Valori în g/dl
Albumină	52-59	3,5-5,5
α_1 globuline	3-5	0,25-0,35
α_2 globuline	8-10	0,5-0,75
β globuline	12-14	0,8-1,05
γ globuline	16-20	1,1-1,5

* De notat că aceste valori depind de aparatura și suporturile utilizate (hârtie de filtru, agaroză, acetat de celuloză, amidon)

Principalele proteine plasmatică

Migrarea electroforetică	Proteina	Concentrația (mg dl)
Prealbumina	Prealbumina	25
Albumina	Albumina	4000
Alfa ₁	α_1 antitripsina (α_1 AT)	280
	Apolipoproteina A (Apo A)	200
	α_1 glicoproteina acidă (α_1 GA)	90
	α_1 antichimotripsina (α_1 CT)	45
	Componenta C9 a sist.compl.	8
	Protrombina	5
	Factor IX	1
	Factor X	1
	α_1 microglobulina	5
	Transcobalamina	0,3
Inter-alfa	Vitronectina (proteina S a sist.com)	40
Alfa ₂	α_2 macroglobulina (α_2 M)	280
	Haptoglobine (HP)	300
	α_2 antiplasma (α_2 AP)	6
	Antitrombina III (AT III)	30
	CI inhibitor (CI INH)	24
	Kininogenul	10
	Ceruloplasmina	35
	Proteina de legare a retinolului	4
	Proteina de legare a tiroxinei	2
Beta	Apolipoproteina B (Apo B)	90
	Transferina	260
	Componentul C3 al sist.comple.	80
	Componentul C4 al sist.comple.	40
	Hemopexina	75
	Fibronectina	33
	Plasminogenul	20
	Factor B al sist.compl.	8
	Factor XIII	3
	Factor V	2
	Factor VIII	1
	β_2 microglobulina (β_2 m)	0,1
Gamma	IgG	1200
	IgA	200
	IgM	150
	IgD	sub 3 mg
	IgE	sub 1 mg
	Componentul Clq din sist.comple.	15
	Proteina C reactivă (CRP)	< 0,5

2.1. GENERALITĂȚI PRIVIND PROTEINELE PLASMATICE

Ca orice proteină din organism, proteinele plasmatiche sunt constituite din unul sau mai multe lanțuri peptidice care au în compoziția lor aminoacizi. Indiferent de funcție sau specie de origine, proteinele sunt alcătuite dintr-un set de 20 aminoacizi aranjați în secvențe specifice fiecărei proteine. În funcție de grupul prostetic, proteinele pot fi clasificate în nucleoproteine, fosfoproteine, metaloproteine, glicoproteine și lipoproteine, iar în raport cu conformația structurală se disting proteine fibrilare și globulare. Proteinele plasmatiche se reînnoiesc în permanență prezentând o serie de particularități în ceea ce privește metabolismul lor.

2.1.1. METABOLISMUL PROTEINELOR PLASMATICE

Acest aspect implică procese de sinteză a proteinelor plasmatiche, distribuirea lor între plasmă și lichidul interstițial, precum și catabolismul acestor proteine. Întrucât între viteza de sinteză și cea de degradare există, în mod normal, o strânsă corelație este de așteptat ca sinteza proteinelor plasmatiche să fie supusă unei riguroase reglări.

2.1.1.1. SINTEZA PROTEINELOR PLASMATICE

Ficatul este principala sursă, sintetizând zilnic aproximativ 20 g proteine care asigură presiunea coloidosmotică precum și transportul hormonilor, vitaminelor, mineralelor și a unor metaboliți (de exemplu bilirubina și acizii grași liberi).

Imunoglobulinele sunt sintetizate în plasmocite, iar alte surse de sinteză a proteinelor plasmatiche sunt macrofagele care produc unele componente ale sistemului complement și unii inhibitori de proteaze, celulele endoteliale care produc proteine cu rol în coagulare, fibrinoliză și adeziune celulară (3). Așa cu s-a arătat în Capitolul 1, celulele mucoasei intestinale sintetizează unele lipoproteine.

Mecanismul general de sinteză a proteinelor este comun tuturor celulelor și implică interacțiuni multiple de transcripție între ADN genomic și ARN mesager, translația acestuia în ribozomi și determinarea secvenței de aminoacizi. Proteinele sintetizate în ribozomi intră pe calea secretorie în reticulul endoplasmatic. După modificări posttranslaționale (de exemplu glicozilări, plieri ale lanțurilor peptidice, formarea de legături S-S, asamblarea unor subunități) proteinele trec în complexul Golgi, iar apoi în rețeaua trans- Golgi. De aici proteinele sunt dirijate fie spre granule secretorii, fie spre endosomi, fie spre lizozomi. Defecte de pliere sau de asamblare a proteinelor survenite la nivelul reticulului endoplasmatic, fac ca aceste proteine cu defect să nu ajungă în complexul Golgi și în alte organite, ci, fiind deversate în citosol, suferă un proces de degradare proteolitică. Cu alte cuvinte, proteinele cu defect nu trec "controlul de calitate" și se degradează (4).

2.1.1.1.1. Reglarea sintezei de proteine plasmatiche. Citokinele.

Acest proces de reglare se exercită atât la nivelul transcripției de mRNA din ADN, cât și la nivelul translației. Sinteza de proteine depinde de o serie de factori. Între aceștia sunt de semnalat aportul adecvat de acizi aminați care constituie materialul de construcție, în timp ce factorii toxici, ca de exemplu alcoolul, pot inhiba sinteza. Rolul complex jucat de hormoni este ilustrat prin procesele de inducere sau de represie a enzimelor implicate în metabolismul hidraților de carbon. Asupra acestui aspect se va reveni pe larg în capitolul 3.

Tabel 2.2.

Citokinele care influențează nivelul proteinelor plasmatice în reacția de fază acută

Cito- kina	GM (kDa)	Loc de sinteză	Receptor	Efectul asupra proteinelor plasmatice		Indusă de:
				crește	scade	
IL-6	26	monocite, limfocite T și B, endotelii, keratinocite, astrocite	homologie cu familia imunoglobuli- nelor	α_1 CT, HP, Fbg, SAA, CRP	Alb., TR	IL-1, TNF, IFN, PDGF
IL-1	17,5	macrofage, neutrofile, limfocite T și B, celulele NK	homologie cu familia imunoglobuli- nelor	α_1 CT, α_1 AT, HP, SAA, C3, α_1 GA	Alb., TR	TNF, LPS
TNF- α	17	macrofage, limfocite T, celule NK	homologie cu receptorul pentru NGF	α_1 CT, HP, CP	Alb., TR	IL-1, LPS
IFN- γ	20-25	limfocite T	distribuit ubiquitar unic pt. IFN- γ	α_2 M, CIINH	α_1 CT, HP, Fbg, Alb.	IL-1, IL-2
TGF β_1	25	plăcuțe, placentă, tinichi, macrofage, lipocite	53-KDa	α_1 CT, α_1 AT	Alb, Fbg	Phorbol- esteri, TGF- β

Abreviații: α_1 AT - α_1 antitripsina; α_1 CT - α_1 antichimotripsina; α_1 GA - α_1 glicoproteina acidă; α_2 M - α_2 macroglobulina; Alb - albumina; CIINH - inhibitorul componentei C1 al sistemului complement; C3 - componenta C3 a sistemului complement; CP - ceruloplasmina; CRP - proteina C reactivă; Fbg - fibrinogen; HP - haptoglobină; IFN- γ - interferon γ ; IL-1 - interleukina-1; IL-6 - interleukina-6; LPS - lipopolizaharide bacteriene; NGF - factor de creștere a nervului; celule NK - celule natural killer; PDGF - factor de creștere derivat din plăcuțe; SAA - proteina serică A a amiloidului; TR - transferina; TNF- α factor de necroză tumorală.

* Lipocitele sunt celule situate în spațiile perisinusoidale ale ficatului capabile să elibereze citokine și să răspundă la citokine.

De notat că pe lângă efectele prezentate în acest tabel și în text, citokinele mai exercită și alte efecte cum sunt stimularea sintezei de inhibitor al activării plasminogenului (PAI-1) în ficat și endotelii, stimularea producției și eliberării de factor von Willebrand din endotelii, expunerea de factor tisular la suprafața endoteliilor, expunerea unor molecule de adeziune precum și internalizarea și degradarea trompomodulinei din endotelii.

Pierderea de proteine survenită în sindromul nefrotic și implicit scăderea presiunii coloidosmotice constituie un stimul pentru accelerarea sintezei de proteine și lipoproteine în ficat, iar produși de degradare ai unor proteine (de exemplu produși de degradare ai fibrinogenului sau ai protrombinei) ar stimula sinteza proteinelor din care provin respectivii produși de degradare.

PROTEINE PLASMATICE

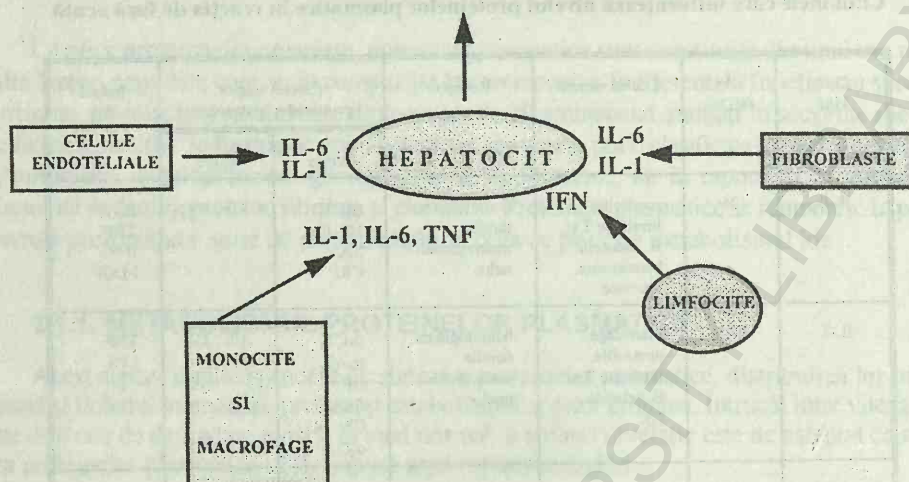


Fig.2.1. Citokine care modulează sinteza proteinelor plasmatice de către hepatocite. Macrofagele, monocitele, fibroblastele și celulele endoteliale produc citokine care induce sinteza proteinelor de fază acută în ficat.

IL-1 - interleukina 1; IL-6 - interleukina 6; TNF - factorul de necroză tumorală; IFN - interferonul (produs de limfocitele T).

În ultimii ani s-au acumulat numeroase dovezi referitoare la rolul major jucat de citokine în reglarea sintezei de proteine.

Citokinele sunt proteine asemănătoare hormonilor și alcătuiesc un grup de mediatori endogeni care asigură o comunicare între celule. Ele sunt produse în timpul dezvoltării și diferențierii celulare și pot fi eliberate din celule ca urmare a leziunilor produse de diverși factori de mediu.

Prin interacțiunea lor cu receptorii membranari specifici, o serie de citokine induce semnale transmembranare care activează sinteza unor proteine cu rol în apărarea organismului. Principalele citokine cu rol în reglarea nivelului proteinelor plasmatice sunt interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6), factorul de necroză tumorală - alfa (TNF- α) și factorul de transformare a creșterii-beta (TGF- β) (vezi tab. 2.2.).

Sinteza acestor citokine are loc la nivelul macrofagelor, fibroblastelor, limfocitelor și celulelor endoteliale. De notat că producția de citokine este reglată și autocrin, unele citokine eliberate din celulă și fixate pe propriul receptor putând să-și autoamplifice sinteza (5,6). Citokinele cu rol în reglarea nivelului de proteine plasmatice au câteva caractere comune:

- sunt alcătuite dintr-un singur lanț polipeptidic cu o greutate moleculară între 17 KD și 30 KD;

- se degradează rapid după declanșarea și dispariția semnalelor care le-au suscitât iar această labilitate se corelează cu prezența secvenței de nucleotide TTATTTA în regiunea 3' netrăslată a genelor care le codifică;

- sunt reglate de corticoizi;

- sunt sintetizate și eliberate ca răspuns la stimuli extracelulari.

De multe ori citokinele menționate mai sus acționează împreună având de regulă efecte cumulative. S-a mai stabilit că fiecare genă care codifică sinteza unei proteine de fază acută necesită o anumită combinație de citokine pentru a se ajunge la un răspuns adecvat și susținut de sinteză a proteinei codificate (7.8).

Pe lângă proprietățile comune, diversele citokine implicate în reglarea sintezei de proteine plasmatică prezintă o serie de particularități care sunt relatate în cele ce urmează, iar o sinteză a acestei probleme este redată în tabelul 2-2.

Interleukina 6 (IL-6), denumită inițial factor de stimulare hepatică, este reglatorul major al sintezei proteinelor de fază acută la nivelul ficatului (6.8). Are o greutate moleculară de 26 KD, iar lungimea mARN-ului corespunzător este de 1.3 kb. Expresia acestui mARN și sinteza ulterioară de IL-6 este indusă de IL-1, interferonul- γ (IFN- γ) TNF- α și de însăși IL-6. În urma legării de receptorul specific, IL-6 induce sinteza de fibrinogen, haptoglobină, proteina C reactivă (CRP) și α_1 glicoproteina acidă dar, izolat, nu are efecte asupra sintezei de α_1 antitripsină (α_1 AT). Inducerea proteinelor de fază acută de către IL-6 este potențată de glucocorticoizi.



Fig. 2.2. Efectul IL-1 asupra expresiei genei componentului C3 al sistemului complement. Diferite concentrații de IL-1 (5,25,50 UI/ml) și LPS (lipopolizaharid bacterian) 10 μ g/ml au fost utilizate pentru stimularea hepatocitelor în cultură timp de 18 ore; mARN a fost purificat prin ultracentrifugare, migrat în gel de agaroză și colorat cu etidium bromid (partea de jos a figurii) apoi mARN specific componentei C3 a fost identificat cu tehnica "Northern blotting" (transfer de tip Northern) utilizând ADN complementar (cDNA) marcat radioactiv și expus la film fotografic (partea de sus a figurii). Se vede o creștere a expresiei de mARN de C3 la concentrații crescute de IL-1 precum și de LPS față de proba de control nestimulată (C). După H.G.Rus și F.Niculescu (date nepublicate)

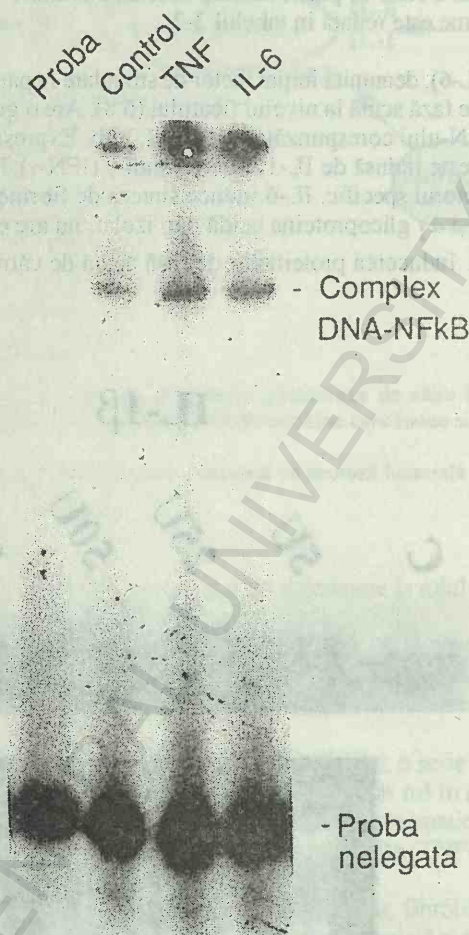


Fig. 2.3. Testarea activării factorilor de transcripție prin tehnica schimbării mobilității electroforetice în gel. În acest experiment s-a urmărit activarea factorului de transcripție NFκB de către TNF și respectiv IL-6. De notat că NFκB (nuclear factor κB) descris în limfocitele B intervine în reglarea expresiei genelor care codifică IL-6, componenta C3 a complementului și a lanțurilor κ ale imunoglobulinelor. Proteinele nucleare conținând NFκB din celulele nestimulate (control) și din celule stimulate în prealabil cu TNF sau IL-6 au fost puse în contact cu secvența de DNA specifică pentru NFκB urmărindu-se formarea de complexe. Se observă formarea unor complexe DNA-NFκB cu migrare lentă în gel comparativ cu proba nelegată în complex. Se mai poate observa că TNF-α și IL-6 produc o creștere a acestei legări care "in vivo" este responsabilă de inducerea proteinelor de fază acută. "Proba" de pe primul euloar de migrare conține proteine nucleare care au fost puse în contact cu DNA specific pentru NFκB (F.Niculescu și H.Rus, date nepublicate).

Interleukina-1 (IL-1) acționează de regulă în cooperare cu IL-6 și determină sinteza cu α_1 antitripsină, haptoglobină, ceruloplasmină, componenta C3 a sistemului complement și proteina serică A a amiloidului. S-au descris două tipuri de IL-1 și anume IL-1 α și IL-1 β , iar macrofagele produc de 10 ori mai mult IL-1 β decât IL-1 α (5).

Factorul de necroză tumorală (TNF- α), denumit și cașectină, exercită o acțiune citotoxică asupra unor celule tumorale. Sintetizată în macrofage, limfocite T și NK (natural killer) această citokină declanșează reacția de fază acută în mod indirect, determinând o sinteză prealabilă de IL-6.

De notat că IL-6, IL-1 și TNF- α determină concomitent cu creșterea sintezei proteinelor de fază acută, incluzând ceruloplasmina și o reducere a sintezei hepatice de albumină și de transferină (9,10). Această comutare a sintezei hepatice de proteine ar putea explica și scăderea colinesterazei serice și a lipoproteinelor serice în cursul reacției de fază acută.

Factorii de transformare a creșterii β_1 și β_2 (transforming growth factors, TGF) exercită funcții multiple, influențând creșterea și diferențierea celulară. În ceea ce privește reacția de fază acută, aceste citokine exercită efecte deosebit de complexe. Pe de o parte, acționând sinergic cu IL-6 determină sinteza hepatică a reactanților de fază acută, iar pe de altă parte reduce numărul de receptori pentru IL-1, diminuând intensitatea reacțiilor inflamatorii (11).

Interferonii (IFN) sunt proteine cu greutate moleculară mică (vezi tab. 2.2) care exercită importante efecte antivirale, intervenind totodată în modularea reacției de fază acută și în proliferarea celulară. IFN- γ acționează sinergic cu IL-6 crescând nivelul seric de α_2 macroglobulină (α_2 M), de inhibitor al componentei C1 a sistemului complement (C1 INH) și de componenta C3 a complementului (12).

O citokină cu efect antiinflamator este interleukina 10 (IL-10).

2.1.1.1.2. Factori de transcripție reglatori ai expresiei genelor care codifică proteinele plasmatice

Procesul de transcripție a informației genetice de pe ADN pe un mRNA este condiționat de intervenția unor proteine reglatoare denumite factori de transcripție. Prin legarea acestor factori pe anumite domenii din ADN se facilitează sau se reduce capacitatea genei de a se transcrie în mRNA reglându-se implicit sinteza de proteine și de enzime. De notat că un singur factor de transcripție poate regla procesul de transcripție la nivelul mai multor gene (13,14).

În cazul reactanților de fază acută, factorii de transcripție intervin atât în expresia genelor pentru citokinele inductoare, cât și în expresia genelor care codifică sinteza proteinelor de fază acută induse de către citokine. De exemplu, gena care codifică IL-6 posedă o regiune specifică NF-IL-6 (Nuclear Factor IL-6) de care se leagă factorul de transcripție notat tot NF-IL-6, modulându-se astfel răspunsul genei la stimulul reprezentat de IL-1. De notat că, la rândul ei, sinteza factorului de transcripție NF-IL-6 este stimulată atât de IL-1 cât și de IL-6, realizându-se astfel o amplificare a genei de IL-6 și implicit accelerarea transcripției de mRNA și deci a producției de IL-6.

Testarea activării factorilor de transcripție, respectiv evidențierea formării de complexe între proteinele nucleare și secvența de ADN specifică pentru un anumit factor de transcripție poate fi efectuată prin tehnica "schimbării mobilității electroforetice în gel" (electrophoretic mobility shift assay, EMSA). Un exemplu al acestei tehnici este redat în fig. 2.3.

Modularea sintezei de proteine poate avea loc și posttranscripțional, respectiv la nivelul procesului de translație. De fapt, prin legarea unor proteine specifice la anumite secvențe nucleotidice din mRNA se poate ajunge fie la stabilizarea acestuia și la accelerarea translației, fie la oprirea procesului de translație.

Exemple privind modularea sintezei de proteine la nivel translațional afectând producția de feritină și de receptori pentru transferină sunt redată în capitolul 6.

2.1.1.2. DISTRIBUȚIA PROTEINELOR PLASMATICE

O parte a proteinelor plasmatice trece mereu din spațiul vascular în cel extravascular, întorcându-se apoi în circulație pe calea limfaticelor. Trecerea prin pereții capilarelor are loc atât prin joncțiunile interendoteliale cât și printr-un transport activ pinocitar, traversând celulele endoteliale. În ambele cazuri, proteinele plasmatice trebuie însă să traverseze membrana bazală a capilarelor. Este posibil ca unele vezicule de transport prin pinocitoză, să fuzioneze cu lizozomii și să sufere o degradare, o serie de proteine plasmatice fiind astfel catabolizate chiar de către endoteliile capilarelor. Conținutul în proteine a lichidului interstițial și al lichidelor transcelulare (lacrimi, umoare apoasă, secreții digestive) este determinat de mecanismele de transport mai sus menționate. În toate aceste fluide predomină proteinele cu greutate moleculară relativ mai mică, ca urmare a efectului de "cernere" de la nivelul membranei bazale a capilarelor. De fapt, conținutul în proteine al unor astfel de transudate, variază de la țesut la țesut, în funcție de natura joncțiunilor interendoteliale ale capilarelor. Așa de exemplu celulele endoteliale ale capilarelor sinusoide din ficat prezintă fenestrații intercelulare exprimate, iar membrana bazală a acestor capilare are un caracter discontinuu. Ca urmare, proteinele plasmatice vin în contact nemijlocit cu celulele hepatice. Așa se explică, de altfel, felul în care pătrund în plasmă proteinele și particulele lipoproteice cu greutate moleculară ridicată sintetizate în ficat (de exemplu α_2 macroglobulina și VLDL).

Conținutul în proteine al unui lichid de transudare depinde și de procesele metabolice sau schimburile la care sunt supuse proteinele filtrate. Așa de exemplu, conținutul în proteine al urinei este mult mai scăzut decât cel al ultrafiltratului glomerular, datorită reabsorbției de proteine în tubii proximali ai nefronilor (15).

2.1.1.3. CATABOLISMUL PROTEINELOR PLASMATICE

Așa cum s-a arătat anterior, proteinele cu "defect de fabricație" sunt de regulă degradate chiar în citoplasma celulelor producătoare și nu ajung în plasmă. Proteinele ajunse în plasmă suferă și ele de un proces de degradare, care are loc în majoritatea țesuturilor și constituie o importantă sursă de acizi aminați pentru sinteza de proteine celulare.

Un proces de degradare a proteinelor plasmatice survine încă din cursul traversării endoteliilor capilare. Deși endoteliile sunt relativ sărace în lizozomi, marea lor suprafață (aproximativ 6000 m^2) asigură nu numai schimburile dar reprezintă și un important potențial catabolic.

Proteinele care au trecut prin endotelii în diverse țesuturi pot fi apoi captate în celulele cu care vin în contact, fiind degradate în lizozomi. Este de așteptat ca proteinele cu greutate moleculară mare (factor von Willebrand, α_2 macroglobulină, resturi de chilomicroni, resturi de VLDL) să fie catabolizate mai ales în ficat unde, datorită structurii discontinue a capilarelor sinusoide, proteinele plasmatice vin în contact direct cu hepatocitele.

Un important proces de catabolizare a proteinelor are loc la nivelul rinichilor. Se știe că zilnic se filtrează la nivel glomerular 2000-4000 mg proteine, dar că în urină apar cel mult 100 mg/24 ore. De fapt proteinele plasmatică care trec în filtratul glomerular în proporție inversă cu greutatea moleculară, sunt în mare parte captate prin pinocitoză la nivelul tubilor contorți proximali, iar o proporție însemnată a acestor proteine este degradată de către enzimele lizozomale din celulele tubulare.

Un alt loc de degradare a proteinelor plasmatică este reprezentat de tractul gastrointestinal, unde proteinele ajunse cu secrețiile digestive sunt supuse proteazelor activate în cursul digestiei.

Este important de arătat că cel puțin în cazul anumitor proteine plasmatică, procesele de recunoaștere, captare, internalizare și degradare sunt facilitate de existența unor receptori specifici. Așa este cazul lipoproteinelor (vezi capitolul 1) și al transferinei (vezi capitolul 6). Se poate deci afirma că proteinele plasmatică pot fi captate în diverse țesuturi fie în grup prin pinocitoză, fie mai selectiv prin intermediul unor receptori specifici pentru anumite proteine. Aceste procese au loc în toate țesuturile dar ficatul, endoteliile capilarelor, rinichii (tubii proximali) și măduva osoasă joacă un rol mai important.

2.1.2. FUNCȚIILE PROTEINELOR PLASMATICE

În ciuda unei creșteri impresionante a volumului de cunoștințe în acest domeniu, mai există încă destul de multe proteine plasmatică a căror funcție biologică este încă neelucidată. În ansamblu, proteinele plasmatică îndeplinesc următoarele funcții:

a. menținerea presiunii coloidosmotice a plasmei și facilitarea schimburilor cu lichidul interstițial;

b. medierea răspunsului imun prin imunoglobuline și prin componentele sistemului complement;

c. participarea la sistemele tampon ale sângelui și la menținerea echilibrului acidobazic;

d. asigurarea transportului plasmatic dirijat al vitaminelor, hormonilor, metalelor, medicamentelor și a unor metaboliți;

e. includ enzime, dintre care unele acționează în plasmă, iar altele sunt doar "în trecere" prin plasmă, fără a avea un rol activ în sânge (vezi capitolul 3).

f. contribuie la fondul comun de proteine și implicit de aminoacizi cu rol în procesele de creștere și separare a țesuturilor. S-a încercat chiar o clasificare a proteinelor plasmatică, în funcție de principala lor funcție (15) distingându-se:

Proteine ale apărării imune, categorie în care se includ imunoglobulinele, proteinele sistemului complement și proteina C reactivă, aceasta din urmă reprezentând un mecanism primitiv nespecific de activare a complementului.

Proteine asociate inflamației, constituie un grup destul de heterogen de proteine care cresc în cursul inflamației diverselor țesuturi și care include fibrinogenul, diverși inhibitori ai proteazelor, α_1 -glicoproteina acidă și haptoglobinele.

Proteinele de transport asigură transferul unei mari varietăți de substanțe de la locul de producere spre locul de acțiune sau de catabolizare. Un alt rol al acestor proteine este de a menține un echilibru între rezervorul de substanță inactivă (fixată pe proteina de transport) din plasmă și cantitatea de substanță liberă și activă. Totodată proteinele de transport intervin în metabolismul substanțelor transportate, interacționând cu receptorii celulari și cu

enzimele. Exemple tipice în acest sens sunt apoproteinele (vezi capitolul 1) cu rol în metabolismul lipidic și transferina care transportă fierul spre țesuturile prevăzute cu receptori specifici pentru transferină (vezi capitolul 6).

O serie de hormoni și de vitamine sunt vehiculate spre celulele țintă, sub formă fixată pe proteine specifice de transport.

Proteinele seminal joacă un rol de mesageri. În acest grup putând fi incluși diverși hormoni cu structură proteică precum și citokinele.

Proteinele cu rol în hemostază constituie un component important din punct de vedere cantitativ a proteinelor plasmatică. Aceste proteine au fost tratate într-un alt volum (2).

Proteinele derivate din țesuturi și proteinele oncofetale se află de regulă în concentrații extrem de joase. Ele pot fi fragmente ale unor proteine membranare deversate în sânge în cursul reînnoirii membranelor sau ca urmare a morții celulei. Un exemplu tipic în acest sens este β_2 -microglobulina. Alte proteine aflate în plasmă sub formă de "urne" sunt proteinele oncofetale produse în tumori ca rezultat al derepresiei genelor care codifică proteinele fetale (ca de exemplu α_1 -fetoproteina).

După părerea noastră această clasificare este mai degrabă rigidă și poate fi utilizată doar cu rezervă. În realitate, diversele proteine incluse într-un anumit grup exercită mai multe funcții. Este suficient de amintit în acest sens că fibrinogenul, un reactant de fază acută denotând inflamația, este totodată un important factor al coagulării.

De asemenea, diverșii inhibitori ai proteazelor inhibă nu numai enzime proteolitice eliberate în cursul inflamației (ca de exemplu elastaza), dar și o serie de factori activați ai coagulării și fibrinolizei. Din acest motiv este necesară o succintă prezentare individualizată a principalelor proteine plasmatică.

2.2. PRINCIPALELE PROTEINE PLASMATICE. BIOCHIMIE ȘI FIZIOPATOLOGIE

Scopul acestui subcapitol este de a prezenta funcția și dinamica câtorva proteine plasmatică cu importanță pentru diagnosticul de laborator.

2.2.1. ALBUMINA

a. **Structura și funcția.** Albumina este proteina cu cea mai mare concentrație din plasmă (între 3.5 și 4.5 g/dl). Are o greutate moleculară de 69 KD și este lipsită de hidrați de carbon. Sinteza hepatică de albumină este relativ constantă (în jur de 20 g/zi) putând fi însă dublată sau chiar triplată la nevoie, respectiv în caz de pierderi. Este prezentă în toate lichidele biologice, iar catabolizarea ei are loc în toate țesuturile, dar mai ales în ficat, rinichi și tractul gastrointestinal. Timpul de înjumătățire în plasmă este de 17-23 zile. Principala funcție constă în menținerea presiunii coloidosmotice a plasmei intervenind astfel în reglarea schimburilor între plasmă și lichidul interstițial. Albumina intervine și în transportul acizilor grași, bilirubinei, a unor hormoni, ioni metalici (Ca, Cu, Zn) precum și a unor medicamente. Totodată albumina constituie o importantă sursă de aminoacizi esențiali, utilizată în procesele de regenerare a țesuturilor.

b. **Genetică și reglare.** Gena umană care codifică albumina are o lungime de 7 KB și se află pe cromozomul 4 alături de gena α -fetoproteinei. Scăderea presiunii coloidosmotice

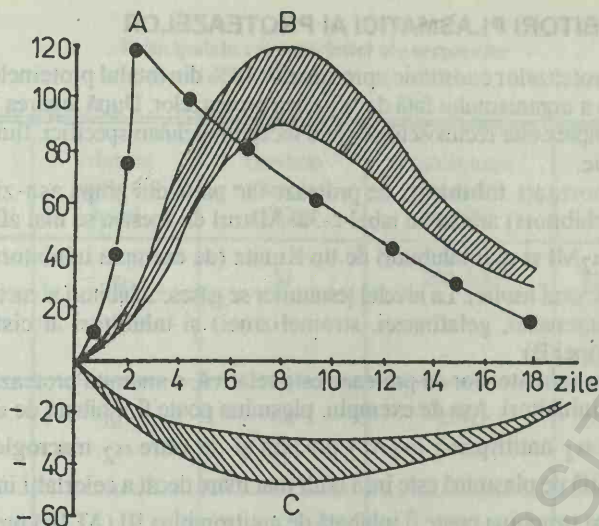


Fig. 2.4. Comportarea diferitelor proteine plasmatice în cursul reacției de fază acută indusă de citokine.
 A - proteina C reactivă (CRP) și α_1 antichimotripsina (α_1 CT).
 B - α_1 antitripsina (α_1 AT), α_1 glicoproteina acidă (α_1 GA) componenta C3 a complementului, fibrinogenul.
 C - albumina serică, transferina, colinesteraza serică.

constituie un puternic stimul pentru accelerarea sintezei hepatice de albumină, iar hormonii tiroidieni și glucocorticoizi stimulează atât sinteza cât și catabolismul, având drept rezultat accelerarea procesului de reînprospătare (turn over) a albuminei din plasmă (16).

c. Implicații în patologie. Hipoalbuminemia survine în stările patologice variate, se instalează prin mecanisme patogenice multiple și are semnificații diferite. În cursul reacțiilor de fază acută mediat de citokine are loc o scădere a sintezei de albumină (vezi tabel 2.2. și fig. 2.4). Hipoalbuminemia de cauză hepatică apare relativ târziu în cursul evoluției bolii, deoarece parenchimul hepatic are o capacitate deosebit de mare de amplificare a sintezei chiar și în condițiile unei reduceri a numărului de celule funcționale. Scăderea aportului de aminoacizi din malnutriție și malabsorbție constituie o altă cauză de reducere a sintezei hepatice de albumină.

Hipoalbuminemia cauzată de pierderi la nivel renal (sindrom nefrotic) sau intestinal (enteropatia exudativă) se instalează atunci când aceste pierderi depășesc capacitatea de sinteză hepatică compensatorie. Valori ale albuminei serice sub 3 g/dl sunt sugestive pentru un proces patologic, iar valori sub 1,5 g/dl implică un prognostic rezervat.

Analbuminemia este o boală genetică transmisă autosomal recesiv, fiind manifestă doar la homoziгоți. În contrast cu lipsa albuminei la electroforeza proteinelor serice, manifestările clinice sunt destul de discrete constând doar din edeme maleolare, hipotensiune arterială și uneori steatoree.

Laboratorul evidențiază o accelerare a VSH și pozitivarea testelor de disproteinemie. Remarcabilă este creșterea nivelului altor proteine plasmatice sintetizate în ficat (fibrinogen, colinesterază, factor XIII), fenomen explicabil prin stimularea funcției proteosintetice a ficatului de către scăderea presiunii coloidosmotice a plasmelor. De notat că în astfel de cazuri timpul de înjumătățire biologică în plasmă ($T/2$) al albuminei infuzate este mult prelungit ajungând până la 55 de zile.

2.2.2. INHIBITORI PLASMATICI AI PROTEAZELOR

Inhibitorii proteazelor constituie aproximativ 10% din totalul proteinelor plasmatice și au rol de protejare a organismului față de acțiunea proteazelor. După legarea inhibitorului de protează, acest complex este recunoscut de către receptori celulari specifici, fiind captat și îndepărtat din circulație.

Cei mai importanți inhibitori de proteaze fac parte din grupa așa-ziselor *serpine* (serine protease inhibitors) arătate în tabel 2-3a. Alături de acestea se mai află în plasmă α_2 macroglobulina (α_2M) și unii inhibitori de tip Kunitz (de exemplu inhibitorul coagulării pe calea mediată de factorul tisular). La nivelul țesuturilor se găsesc inhibitori ai metaloproteinazelor (inhibitori ai collagenazei, gelatinazei, stromelizinei) și inhibitori ai cisteinoproteazelor (inhibitorul catepsinei B).

Specificitatea inhibitorilor de proteaze este relativă, o anumită protează putând fi blocată de mai mulți inhibitori. Așa de exemplu, plasmina poate fi inhibată de α_2 antiplasmină (α_2AP) dar și de α_1 antitripsină (α_1AT) precum și de către α_2 macroglobulină (α_2M). Afinitatea α_2AP față de plasmină este însă mult mai mare decât a celorlalți inhibitori de proteaze. De asemenea trombina poate fi inhibată de antitrombina III (AT III) precum și de către α_2M și α_1AT . Spre deosebire de α_1AT și α_2M , heparina produce o creștere de peste 1000 de ori a afinității ATIII față de trombină.

Afinitatea inhibitorilor față de o anumită protează se explică pe baza unei anumite secvențe de aminoacizi din structura lor, corespunzând, de regulă, situsului din molecula de substrat asupra căruia acționează în mod preferențial proteaza. S-a arătat astfel că trombina clivează de preferință legăturile argininei din structura fibrinei, iar elastaza eliberează din granulocite atacă preferențial legăturile peptidice ale metioninei. Se știe de asemenea că AT III conține în situsul său reactiv arginină iar α_1AT conține în situsul reactiv aminoacidul metionină.

Ilustrativă în acest sens mutația care a dus la substituirea metioninei de către arginină în poziția 358 a moleculei de α_1AT (α_1AT 358 Met \rightarrow Arg). Această "variantă Pittsburg" a făcut ca α_1AT să inhibe trombina. Întrucât, așa cum s-a arătat anterior, α_1AT este un reactant de fază acută, varianta Pittsburg creștea mult în cursul traumatismelor, ducând la o activitate antitrombinică exagerată care în cursul unui accident s-a soldat cu o hemoragie fatală (18). O sinteză a problemelor ridicate de inhibitorii proteazelor este prezentată în tabelele 2-3a și 2-3b.

2.2.2.1. ALFA-1 ANTITRIPSINA (1AT)

a. **Structura și funcția.** α_1 antitripsina (α_1AT) cunoscută și sub denumirea de α_1 protease inhibitor (α_1PI) este sintetizată mai ales în ficat, iar această sinteză este stimulată de către citokinele eliberate din macrofage (vezi tabel 2.2).

După sinteză și procesare intracitoplasmatică, α_1AT se eliberează în plasmă realizând o concentrație de 200-400 mg/dl și având un timp de înjumătățire de 6 zile. Este o glicoproteină care include trei lanțuri de carbohidrați și 394 aminoacizi, metionina din poziția 358 reprezentând situsul de atac al proteazelor. S-a putut preciza că după clivarea legăturii peptidice a metioninei 358, proteazele rămân prinse în capcana reprezentată de α_1AT , fiind astfel inactivate și mai apoi îndepărtate din circulație.

Principalele caracteristici ale serpinelor

Tabel 2.3.a.

Proteina	Migrare electrofo- retică	Greutate moleculară (kDa)	Concentrație plasmatică (mg/dl)	Proteaze inhibitate
α_1 antitripsina (α_1 AT)	α_1	54	200-400	elastază*, tripsina*, colagenaza*, trombina, plasmina, kaliceina
α_1 antichimo- tripsina (α_1 CT)	α_1	68	30-60	chimotripsina*, tripsina*, catepsina D, elastaza
α_2 antiplasmina (α_2 AP)	α_2	70	6	plasmina*, trombina, kaliceina, F XIa, F Xa, F IXa
Antitrombina III (ATIII)**	α_2	65	20-40	trombina*, F Xa*, F XIIa, F XIa, F IXa, kaliceina, plasmina, tripsina
Inhibitorul proteinei C (PCI)**	α_2	57	0,3-0,6	proteina C activată*, urokinaza (u-PA) trombina
C1 inhibitor (C1 INH)	α_2	104	15-35	C1 r*, C1 s*, kaliceina, F XIIa, F XIa, plasmina
Inhibitorul activării plasminogenu- lui		50	10-30 (ng/ml)	activatorii plasminogenu-lui - de tip tisular (t-PA) - de tip urinar (u-PA)

* - inhibitate cu mare afinitate

** - activitatea inhibitorie potențată de heparină

Situsul de reacție al unor serpine. De notat că mutația 358 Met → Arg modifică afinitatea față de proteaza inhibată de predilecție

Serpine	Situs de reacție	Proteaze inhibate de predilecție
α_1 antitripsina	Pro-Met-Ser-Ile	elastaza, tripsina
Antitrombina III	Gly-Arg-Ser-Leu	trombina, factor X a
C1 Inhibitor	Ala-Arg-Thr-Leu	C1s, kaliceina
Mutanta Pittsburg (358 Met → Arg)	Pro-Arg-Ser-Ile	trombina, kaliceină

Având o greutate moleculară relativ mică (54 KD), α_1 AT trece destul de ușor în interstițiu și poate proteja astfel țesuturile față de activitatea distructivă a proteazelor și mai ales față de elastaza eliberată din neutrofile precum și față de tripsină. De notat că fumatul și radicalii superoxid generați de neutrofile pot inactiva α_1 AT prin oxidarea situsului reactiv (19).

b. **Genetica.** Locusul PI (protease inhibitor) este extrem de polimorf cu peste 60 de variante genetice, clasificate în funcție de migrarea electroforetică. Varianta cea mai frecventă și considerată a fi cea normală este notată M (peste 90% din subiecți, urmată de variantele S (3%) și Z (2%). Nivelele plasmatice de 200–400 mg/dl corespund variantei Pi MM. În timp ce variantele Pi MS, Pi MZ și Pi ZZ se asociază cu concentrații plasmatice mai reduse. S-a arătat că varianta S este consecutivă mutației 264 Glu → Val care induce o instabilitate a moleculei de α_1 AT ducând la o degradare mai rapidă a acestei molecule. În cazul variantei Z, mutația 342 Glu → Lys face ca 85% din moleculele de α_1 AT să rămână blocate în citoplasma hepatocitelor unde se evidențiază sub formă de incluziuni PAS pozitive. Prin urmare, scăderea nivelelor plasmatice de α_1 AT se pot datora sintezei unor molecule ușor degradabile (variantele S), deficitul de procesare și eliberare din hepatocite a moleculelor de α_1 AT (variantele Z) sau chiar lipsei de sinteză (variantele Pi nul). Cazurile de homozigoți realizând fenotipurile ZZ și Pi nul (lipsă totală) se soldează cu deficit de inhibare a proteazelor și se pot solda cu boli pulmonare severe (20,21,22).

c. **Deficitul de α_1 AT și bolile pulmonare.** Aproximativ 2% din cazurile de emfizem pulmonar din Europa și America de Nord se asociază cu deficit homozigot de α_1 AT (Pi ZZ și Pi nul). Emfizemul se dezvoltă la astfel de subiecți încă din a doua sau a treia decadă a vieții, mai ales dacă sunt și fumători.

Se consideră că în cursul unor procese inflamatorii ale căilor respiratorii se ajunge la o eliberare de elastază din neutrofilele acumulate în focarul inflamator. În mod normal aceste proteaze sunt inhibate de către α_1 AT exudată în țesutul inflamator, pe când în cazurile cu deficit de α_1 AT, elastaza neînhibată va duce la degradarea proteolitică a septelor interalveolare și implicit la producerea unui emfizem care adeseori devine panlobular. Administrarea de α_1 AT purificată din plasmă sau obținută prin inginerie genetică (recombinant α_1 AT)

poate preveni sau măcar încetini apariția bolii la subiecții cu deficit genetic. O abordare mai radicală constă în transplantul de ficat (20,21).

d. Deficitul de α_1 AT în alte boli. Aproximativ 10-20% a nou-născuților cu Pi ZZ dezvoltă hepatită neonatală, iar la o treime din aceștia boala progresează spre ciroză fatală. Cei care ajung la vârstă adultă dezvoltă probabil mecanisme compensatorii capabile să prevină degradarea proteolitică a tramei de collagen și elastină a lobulilor hepatici și oprind astfel regenerarea dezorganizată tipică cirozei. În orice caz, doar o proporție redusă de adulți Pi ZZ dezvoltă ciroză, deși toți înzvizii cu această anomalie prezintă în hepatocite incluziuni PAS pozitive care, prin metode imunochimice, s-au dovedit a fi acumulări de α_1 AT.

Pe de altă parte, 4-5% a subiecților adulți cu Pi ZZ dezvoltă poliartrită reumatoidă neasociată cu alte colagenoze. Fenotipul MZ (heterozigot) pare a fi predispus la boli renale, îndeosebi glomerulonefrită, membrano-proliferativă.

Scăderi cu caracter câștigat ale nivelului plasmatic de α_1 AT se întâlnesc doar în mod excepțional și în mod trecător în condițiile unui consum exagerat de inhibitori ai proteazelor așa cum poate surveni în șocul toxico-septic.

Dimpotrivă, creșterea nivelului plasmatic de α_1 AT survine frecvent, putând depăși de 4 ori valoarea normală în cursul reacției de fază acută declanșată sub acțiunea citokinelor.

2.2.2.2. ALFA 1 ANTICHIMOTRIPSINA (α_1 CT)

Este o glicoproteină având un conținut de hidrați de carbon în proporție de 26%. Pe baza secvenței de aminoacizi greutatea moleculară ar fi de 55 KD, dar, tocmai datorită conținutului ridicat de componente glucidice, această greutate ajunge la 68 KD. Concentrația plasmatică este de 45 mg/dl, fiind extrem de activă în procesul de inhibare a catepsinei G leucocitare și a chimotripsinei, dar fără a inhiba tripsina și elastaza. Aflată în concentrație relativ mai mare la nivelul secrețiilor bronșice, i s-a atribuit un rol în protejarea suprafețelor mucoase față de proteaze. De notat că α_1 CT prezintă creșteri importante în cursul reacției de fază acută. S-au descris și cazuri cu deficit genetic, heterozigoții prezentând valori de 50% din media normalilor. O constatare încă neexplicată se referă la creșterea concentrației α_1 CT în substanța cenușie a bolnavilor cu boala Alzheimer (20).

2.2.2.3. ALFA 2 ANTIPLASMINA (α_2 AP)

Această glicoproteină, cu o greutate moleculară de 70 KD și aflată în plasmă în concentrație de abia 6 mg/dl, constituie principalul inhibitor al plasminei. Se descriu trei situsuri ale α_2 AP cu importanță funcțională: a) un situs conținând arginină și metionină prin care α_2 AP captează și inhibă plasmina; b) un situs conținând glutamină prin care α_2 AP se leagă covalent în rețeaua de fibrină sub acțiunea catalitică a factorului XIII stabilizator al fibrinei; c) un situs prin care α_2 AP se leagă reversibil de plasminogen prin intermediul unui radical lizină. Aceste proprietăți permit ca, spre deosebire de α_1 AT și α_2 M, molecula de α_2 AP să se încorporeze în cheagul de fibrină și să antagonizeze plasmina și la acest nivel.

Deficitul genetic de α_2 AP, cunoscut și sub denumirea de boala Miyasato, se soldează cu sindrom hemoragic, datorită lizei rapide a dopului hemostatic de fibrină. Scăderi cu caracter câștigat ale α_2 AP se întâlnesc în insuficiența hepatică (prin scăderea sintezei) în

coagularea intravasculară diseminată sau după terapia trombolitică (prin exagerarea consumului) precum și în cursul leucemiei acute promielocitare, când acest inhibitor este degradat de proteazele eliberate din promielocite. Detalii privind α_2 AP pot fi găsite în tratate și monografii privind hemostaza (2).

2.2.2.4. ANTITROMBINA III (AT III)

Având o greutate moleculară de 58 KD și o concentrație plasmatică de 25-30 mg/dl, această glicoproteină posedă două situsuri cu importanță funcțională: legătura peptidică a argininei din poziția 393 reprezintă zona clivată de trombină și de factorul Xa și la nivelul căruia rămân prinse aceste proteaze serinice. Al doilea situs reprezentat de Arg 47, Lys 125 și Arg 129, asigură fixarea heparinei la molecula de AT III, modificându-i-se conformația și crescându-i afinitatea pentru proteazele pe care le inhibă (în speță trombina și factorul Xa).

Deficitul genetic în sinteza de AT III, sau mutații în cele două situsuri menționate se soldează cu o accentuată predispoziție la tromboză. Scăderi cu caracter câștigat se întâlnesc în insuficiența hepatică (prin deficit de sinteză), în sindrom nefrotic (prin pierdere urinară) și în sindroamele de coagulare intravasculară diseminată (prin consum exagerat). Deficitul de proteine din malnutriție, malabsorbție și enteropatia cu pierdere de proteine se soldează de asemenea cu scăderi ale AT III din plasmă.

Pentru detalii se recomandă monografiile privind hemostaza (2).

2.2.2.5. ALFA 2 MACROGLOBULINA (α_2 M)

a) **Structura și funcția.** α_2 M este sintetizată în ficat, macrofage și endotelii, are o greutate moleculară de 735 KD și o concentrație plasmatică de 200-300 mg/dl. Este un inhibitor cu un spectru larg de activitate, inhibând enzime ale coagulării, plasmina, elastaza, colagenaza și cathepsina G.

Spre deosebire de α_1 AT, α_1 CT, α_2 AP și AT III, acest inhibitor de proteaze nu face parte din clasa serpinelor; α_2 M este dotată cu două situsuri alcătuite din câte un tioester între glutamină și cisteină. După ce, sub acțiunea proteazelor suferă clivarea unui fragment de 80 KD, molecula de α_2 M se înfășoară în jurul proteazelor, interferând cu accesul acestora spre substratele macromoleculare. De notat că proteazele complexate cu α_2 M își păstrează capacitatea de a hidroliza substratele cu greutate moleculară redusă, așa cum sunt peptidele cuplate cu p-nitroanilida (cromogeni utilizați în laborator pentru studiul coagulării și fibrinolizei).

Proteazele în complex cu α_2 M sunt rapid îndepărtate din circulație ($T/2$ de 10 min) pe când moleculele de α_2 M necomplexate cu proteaze au un timp de înjumătățire în plasmă de 135 ore.

O altă funcție importantă a α_2 M constă în capacitatea de a lega majoritatea citokinelor (mai ales IL-1, IL-6 și TGF α), acest fenomen având un important rol în modularea activității, proinflamatorii a citokinelor.

De fapt, α_2 M nu face parte din reacției de fază acută, iar prin legarea citokinelor, nefixate încă pe receptorii specifici, exercită chiar un efect de limitare a reacției de fază acută. Prin fixare la suprafața limfocitelor, α_2 M exercită și efecte imunoreglatoare, intervenind în

sinteza imunoglobulinelor. Împreună cu albumina, α_2M are și rol în transportul insulinei, al zincului și al altor microelemente.

b. Implicații în patologie. Deficitul genetic hemozigot este incompatibil cu viața, iar deficitul parțial, heterozigot, se însoțește de sângerări pasagere determinate de accelerare a fibrinolizei.

Scăderi cu caracter câștigat se întâlnesc rareori și doar în caz de consum exagerat al inhibitorilor de proteaze, ca de exemplu în pancreatitele acute severe și în sindroame de coagulare intravasculară diseminată.

Cele mai importante creșteri ale nivelului seric de α_2M se constată în sindromul nefrotic, atât ca urmare a accelerării sintezei cât și datorită greutății moleculare deosebit de ridicate care previne o pierdere urinară. Valori crescute se mai observă în diabetul zaharat, nivelele de α_2M corelându-se cu durata bolii și cu prezența nefro- și retinopatiei. De notat că prezența de α_2M în exudate denotă a alterare importantă a permeabilității locale a capilarelor, care permite extravazarea unei proteine cu greutate moleculară deosebit de ridicată (1, 15, 23).

2.2.2.6. ALȚI INHIBITORI AI PROTEAZELOR

Lista inhibitorilor de proteaze nu se limitează la cele arătate mai sus. Așa de exemplu inhibitorii activării plasminogenului (PAI-1, PAI-2, PAI-3) previn acțiunea activatorilor plasminogenului (t-PA, u-PA). PAI-1 produs mai ales în ficat și endotelii constituie, alături de α_2AP , principala frână a unei activări excesive a fibrinolizei. PAI-2 provenit mai ales din placenta intervine în încetinirea fibrinolizei în ultimul trimestru al sarcinii, iar PAI-3 inhibă cu predilecție proteina C activată (2). De notat că PAI-3 este identic cu inhibitorul proteinei C (PCI).

Inhibitorul componentei C_1 a complementului (C_1 INH) limitează nu numai activarea sistemului complement dar și activitatea kalikreinei a unor factori ai coagulării (f XII a, f XI a), exercitând și o slabă activitate inhibitoare asupra sistemului fibrinolitic.

Alți inhibitori ai proteazelor, acționând mai ales în țesuturi sunt proteaze-nexina, inhibitori ai metaloproteinazelor (colagenaze, gelatinaze). Multitudinea de inhibitori ai proteinazelor, acționând la nivele și prin mecanisme diferite, subliniază importanța lor în prevenirea degradării proteolitice a țesuturilor precum și în controlul coagulării, fibrinolizei, a sistemului complement și a sistemului kininoformator.

2.2.3. ALFA 1 - GLICOPROTEINA ACIDĂ (α_1GA)

Acest reactant de fază acută (denumit în trecut orosomucoid) este sintetizat în ficat, se află în concentrație de 44-140 mg/dl plasmă, dar poate crește de peste patru ori în cursul reacțiilor inflamatorii. Are o greutate moleculară de numai 41 KD iar 42% din componentă este dată de hidrații de carbon.

De fapt, tocmai această componentă favorizează legarea nespecifică a α_1GA la suprafața unor bacterii, virusuri sau protozoare. De asemenea, leagă o serie de medicamente ca miorelaxantele (pancuroni, alcuroni), medicamente psihotrope (imipramina, clorpromazina) precum și propranololul și progesterona (24).

I s-a atribuit și un rol de modulare a răspunsului imun, temperând activarea neutrofilului (25).

Deși nu are specificitate pentru o anumită afecțiune, este un important indicator al declanșării și persistenței unui proces inflamator, revenirea la normal survenind la aproximativ 2-3 săptămâni de la vindecare.

Scăderi ale α_1 GA s-au semnalat în malnutriție și ciroză hepatică (deficit de sinteză) și în sindromul nefrotic (prin pierdere urinară).

2.2.4. PROTEINA C REACTIVĂ (CPR)

a. **Structură și funcție.** CRP este alcătuită din cinci subunități identice, fiecare de 21 KD, asociate prin legături necovalente. Este sintetizată în ficat, cantități mai reduse provenind din limfocite T. Sinteza CRP este indusă de IL-6 efectul inductor fiind potențat de IL-1.

În absența unui proces inflamator, concentrația serică de CRP este sub 0,1 mg/dl (în orice caz sub 0,5 mg/dl), dar în cursul unui astfel de proces poate crește de câteva sute de ori și chiar până la de 3000 de ori, ceea ce o face un indicator extrem de util pentru detectarea și monitorizarea inflamației. CRP se leagă cu mare afinitate de polizaharidul C al pneumococului (de unde și denumirea), iar ulterior s-a demonstrat că această proprietate de legare se manifestă și asupra altor glicoproteide conținând N-acetil-galactozamino-6-fosfat ca reziduu glucidic terminal, aflate în peretele a numeroase bacterii, a fungilor și a protozoarelor. Legarea mai sus amintită duce la activarea complementului pe calea clasică (prin intermediul C1q), procesul de activare fiind la fel de eficient ca și cel realizat de imunoglobulinele G. Se realizează astfel o opsonizare a microorganismelor, facilitându-se îndepărtarea lor de către celulele fagocitare. CRP prezintă o afinitate crescută și față de cromatină, servind ca ligand pentru fosfolipidele și acizii nucleici eliberați prin distrucția celulelor (26).

Alte efecte ale CRP constau din interacțiunea cu receptorul Fc al monocitelor și limfocitelor, din inhibarea agregării plachetelor sanguine și din reducerea eliberării de citokine proinflamatorii. Totodată CRP induce proliferarea limfocitelor T supresoare cu rol în limitarea sintezei de anticorpi. Rezultă deci că CRP este indusă de citokine, dar odată produsă, ea limitează acțiunea acestora și în ansamblu acționează ca un modulator al proceselor imune.

b. **Implicații în patologie.** Datorită ratei de sinteză deosebit de rapidă, care survine încă de la debutul bolii, CRP reprezintă un indicator important în monitorizarea infecțiilor și în genere a inflamațiilor acute și cronice. De fapt, CRP s-a dovedit utilă în diagnosticul infecțiilor post-operatorii, în urmărirea recidivelor septicemice sau meningitice la nou-născuți, în diagnosticul infecțiilor la leucemici, precum și în depistarea unor infecții intercurrente la bolnavii cu lupus eritematos sistemic, care duc de regulă la o exacerbare a bolii.

De notat însă că CRP crește și în stări patologice în care nu se decelează o infecție, ci doar o inflamație nespecifică. Valori crescute ale CRP au fost astfel decelate în puseuri ale unui reumatism poliarticular acut, în poliartrita reumatoidă, spondilita anchilozantă, sindrom Reiter, vasculită, sindrom Behcet și rectocolita hemoragică (27).

2.2.5. HAPTOGLOBINELE

Haptoglobinele sunt o familie de glicoproteine, sintetizate în ficat și capabile să lege hemoglobina, un mol de haptoglobină putând lega doi moli de hemoglobină, acest complex fiind apoi rapid captat din circulație de către macrofage. Se previne astfel o eventuală pierdere de fier pe cale urinară.

Haptoglobinele sunt alcătuite din patru lanțuri peptidice (2 lanțuri α scurte și 2 lanțuri β mai lungi care includ și hidrații de carbon). Concentrația serică este de 300 mg/dl, existând 10 fenotipuri de haptoglobine determinate genetic și având utilitate în medicina judiciară.

Haptoglobinele sunt reacțanți de fază acută, crescând în infecții microbiene, arsuri, reacții alergice, cancere și leucemii.

Scăderi s-au evidențiat în insuficiența hepatică (deficit de sinteză) și în anemii hemolitice (prin consum în urma formării de complexe cu hemoglobina și a îndepărtării rapide a acestor complexe). De fapt, timpul de înjumătățire în plasmă ($T/2$) al haptoglobinelor este de 5 zile, dar sub formă de complex cu hemoglobina acest timp se reduce la 9-30 minute. Determinările de haptoglobină furnizează astfel relații atât asupra reacției de fază acută (creșteri) cât și asupra unui proces de hemoliză (scăderi).

2.2.6. PROTEINELE SERICE ALE AMILOIDULUI

S-au descris două proteine serice care intră în compoziția amiloidului care se depune în țesuturi. Acestea sunt proteina A și proteina P.

Proteina serică A a amiloidului (SAA) este un reactant de fază acută, produs în ficat, având o greutate moleculară de 11-15 KD, dar putând forma complexe de 100-200 KD. În condiții normale, nivelul său plasmatic este extrem de redus, dar, la câteva ore de la declanșarea reacției de fază acută, poate crește de peste 100 de ori, sub acțiunea inductoare a IL-1 și TNF- α (28,29). Pe lângă rolul său de legare a lipopolizaharidelor din peretele bacteriilor și de îndepărtare a acestora din circulație, SAA ar stimula producția de collagenază cu rol în remodelarea și repararea țesuturilor (30). Există dovezi că SAA ar interveni în procesele imune inhibând limfocitele T-helper precum și interacțiunea limfocitelor cu macrofagele. Pentru patologie este important faptul că SAA este precursorul proteinei fibrilare A a amiloidului, contribuind implicit la depunerea de amiloid în țesuturi. Un astfel de proces are loc în boala genetică denumită "febra mediteraneană familială" precum și în amiloidozele secundare, care pot surveni la bolnavii cu infecții recurente sau prelungite. Determinările radioimunologice au evidențiat creșteri ale nivelelor serice de SAA în sarcină, în poliartrita reumatoidă, lupusul eritematos sistemic precum și în cancerul pulmonar. Scăderi au fost detectate după chimioterapie, urmate însă de creșteri, în caz de reactivare a procesului tumoral.

Proteina serică P a amiloidului (SAP). Deși are o identitate de 54% cu CRP, în privința structurii primare de aminoacizi, SAP nu este un reactant de fază acută. Este produsă în ficat, are o greutate moleculară de 23 KD și un timp de înjumătățire în plasmă de 9 zile. Concentrația serică este de 2-5 mg/dl, fiind mai crescută cu aproximativ 1 mg la bărbați decât la femei. SAP a putut fi evidențiată în membrana glomerulară și în ariile microfibrilare ale țesutului elastic vascular (31). Pentru patologie este importantă participarea sa la formarea depozitelor de amiloid în toate formele sistenice de amiloidoză, legându-se cu mare afinitate de SAA. După injectarea intravenoasă de 125 I-SAP, aceasta se fixează în depozitele de amiloid, ceea ce permite diagnosticul, localizarea și monitorizarea amiloidozei (32).

2.2.7. CONSIDERAȚII ASUPRA PROTEINELOR DE FAZĂ ACUTĂ

Așa cum s-a arătat mai sus, reacția de fază acută declanșată sub acțiunea citokinelor se caracterizează prin creșterea rapidă și importantă a unor variate proteine și glicoproteine. Între acestea sunt de menționat inhibitorii ai proteazelor cum sunt α_1 AT, α_1 CT, PAI-1 și doar în mai

mică măsură AT III. La inhibitorii de proteaze se adaugă CRP, α_1 GA, haptoglobina, ceruloplasmina și SAA. De notat că, pe lângă proprietatea de a semnaliza reacția de fază acută, aceste proteine intervin în modularea proceselor imune, ceruloplasmina este o oxidoreductază, haptoglobinele intervin în fixarea hemoglobinei, iar α_1 GA contribuie la legarea și transportul unor medicamente. Cele relatate denotă, încă o dată, dificultățile întâmpinate de încercările de clasificare a proteinelor plasmatice pe baza funcțiilor pe care le îndeplinesc.

2.2.8. TRANSFERINA

a. **Structură și funcție.** Este o glicoproteină, cunoscută și sub denumirea de siderofilină, dotată cu capacitatea de a lega fierul și de a-l transporta spre organele prevăzute cu receptori pentru transferină, asigurându-se astfel aportul de fier necesar sintezei hemului și a enzimelor care conțin fier. Are o greutate moleculară de 86 KD și o concentrație plasmatică de 200-400 mg/dl. Este alcătuită dintr-un singur lanț peptidic și două lanțuri identice de hidrați de carbon dotate cu situsuri de fixare pentru atomii de fier. În cazul adultului sănătos, doar aproximativ o treime din transferină este saturată cu fier, transportând însă 99% din fierul seric. Acest transport se face atât de la nivel intestinal spre organele în care are loc utilizarea sau stocarea fierului, cât și între organele care depozitează fierul și cele care îl utilizează pentru sinteza hemului (transportul în ambele sensuri).

Pe lângă această principală funcție, transferina mai are și alte roluri cum ar fi cel de protecție față de infecții și față de proliferările tumorale, exercitând o competiție pentru fier cu microorganismele și cu celulele tumorale. Pe de altă parte, în cazul celulelor prevăzute cu receptori specifici (de ex. elementele seriei roșii din măduvă), transferina reprezintă un factor de creștere (33).

De fapt, complexul transferină-Fe intră în celulă prin intermediul unui receptor specific care-i mediază endocitoza. Desprinderea fierului de pe transferină se face la un pH redus, în vezicule endocitate, reducându-se astfel posibilitatea eliberării nespecifice a fierului la suprafața celulelor. După eliberarea fierului, transferina este recirculată, împreună cu receptorul ei spre suprafața celulei și se reîntoarce în plasmă (34). Date privind mecanismele de reglare a producției de transferină și de receptori pentru transferină sunt prezentate în capitolul 6.

b. **Implicații în patologie.** Atransferinemia congenitală se prezintă ca o anemie hipocromă, microcitară și caracterizată prin nivele extrem de scăzute ale transferinei serice (0-40 mg/dl). Este rezistentă la terapia cu fier, singura posibilitate de remediere a deficienței fiind perfuziile de plasmă sau de transferină purificată. Au fost descrise și cazuri cu anticorpi (clasa IgG) antitransferină care blochează transportul și captarea fierului în celule. În astfel de situații transferina serică poate fi mult crescută, dar capacitatea sa de a fixa fierul este redusă astfel încât fierul liber din circulație se află în concentrație sporită, depunându-se în țesuturi și generând tabloul clinic al unei hemocromatoze. Experiențe efectuate pe animale de laborator "in vivo" sugerează și posibilitatea blocării intrării în celule a complexului transferină-fier ca urmare a producerii de anticorpi față de receptori celulari ai transferinei (34).

Variații suferite de nivele plasmatice de transferină, a capacității totale de fixare a fierului, precum și a nivelelor de receptori pentru transferină sunt prezentate în capitolul 6, în context cu alți parametri ai economiei fierului din organism.

2.2.9. FIBRONECTINA

Fibronectina (FN) este o glicoproteină cu greutate moleculară de 440 KD, făcând parte din grupul "proteinelor de adeziune". Astfel de proteine posedă în structura lor tripeptidul Arg-Gly-Asp (RGD), prin intermediul căruia se leagă la anumiți receptori celulari, denumiți integrine, asigurându-se astfel adeziunea celulară. De altfel chiar denumirea de fibronectină se referă la funcție ei de legare (conectare) a diferitelor structuri tisulare și provine de la termenii latini "fibra" și "nectere". FN se găsește în plasmă sub formă solubilă (pFN) iar în matricea de țesut conjunctiv, membranele bazale și glicocalixul celular se află sub forma unei așa-zise fibronectine celulare (cFN) insolubilă. De notat că cFN are o greutate moleculară mai ridicată, datorită inserției unor domenii adiționale. Transformarea FN solubile în FN fibrilă poate fi indusă de agenți polianionici ca heparina, spermidina și heparansulfatul, cu care cooperează în asigurarea interacțiunii dintre celule și matrice și în direcționarea fibrilogenezei collagenului, contribuind astfel la formarea țesutului conjunctiv și la repararea țesuturilor (35). Nivelul plasmatic de FN este de 25-40 mg/dl, iar cu ajutorul anticorpilor monoclonali s-au putut efectua dozări diferențiate de pFN și de cFN. Doar cantități minime de cFN ajung în plasmă în unele boli vasculare, dar chiar și în astfel de cazuri concentrațiile de cFN ajung la abia 0.1-0.2 mg/dl. Prin urmare, se poate afirma că în mod practic nivelul plasmatic de FN, determinat de rutină cu anticorpi policlonali, este alcătuit aproape exclusiv din pFN (36). Date experimentale, obținute prin perfuzia ficatului izolat de șobolan, demonstrează că principalul sediu de sinteză a pFN este ficatul, producția de FN fiind stimulată dacă la lichidul de perfuzie se adaugă insulină și cortizon. Pe lângă rolul pFN de posibil precursor al cFN, multiplele domenii ale acestei glicoproteine îi conferă posibilitatea de opsonizare a bacteriilor și de acțiune cu detritusuri celulare facilitând îndepărtarea acestora.

De notat că, sub acțiunea factorului XIII stabilizator al fibrinei, fibrina se leagă de fibronectină iar aceasta stabilește legături covalente cu collagenul, asigurându-se astfel organizarea fibroasă a depozitelor de fibrină. Detalii asupra rolului fibronectinei în hemostază și în prepararea "cleiurilor de fibrină" sunt prezentate într-o monografie precedentă (2).

b. Implicații în patologie. Scăderea nivelului plasmatic de FN, ca urmare a unui deficit de sinteză se întâlnește în cursul insuficienței hepatice la bolnavii cu ciroză hepatică decompensată parenchimatos și la bolnavii cu leucemie acută limfoblastică tratați cu L-asparaginază. Se mai constată scăderi ale FN și după intervenții chirurgicale majore, traumatisme multiple și stări septice, mai ales atunci când se asociază fenomene de coagulare intravasculară diseminată.

Creșteri importante ale nivelului plasmatic de FN s-au semnalat în sindromul nefrotic și în obezitatea de tip android (abdominal), fiind mai probabil consecutive unei stimulări a sintezei hepatice de proteine și asociindu-se cu hipertrigliceridemia (37,38,39). De notat că în hepatitele cronice și în cirozele hepatice compensate, dar prezentând semne de progresiune, nivele plasmatic de FN au fost crescute (37). De altfel, procesele inflamatorii evoluează cu nivele crescute de FN, a cărei sinteză este probabil stimulată de o anumită constelație de citokine proinflamatorii.

A fost descris și un deficit genetic de FN, subiecții afectați prezentând o întârziere în vindecarea plăgilor și tendința la formarea de cheloid în exces.

2.2.10. VITRONECTINA

Vitronectina (VN) este o glicoproteină cu greutate moleculară de 75 KD și o concentrație serică de 30-50 mg/dl. Ca și FN, VN conține în structura ei tripeptidul Arg-Gly-Asp (RGD)

cu rol în adeziunea celulară, precum și un domeniu bazic care leagă heparina. Acest domeniu este implicat și în activarea complexului terminal al sistemului complement precum și în inhibarea activității litice a perforinei produse de limfocitele T citotoxice (40). La aceste efecte se mai adaugă și proprietatea VN de a forma complexe cu inhibitorul activării plasminogenului (PAI-1) fără a diminua capacitatea acestui inhibitor de proteaze în procesul de blocare a t-PA și u-PA.

Nivelul seric al VN se corelează pozitiv cu activitatea colinesterazei și cu factorul X al coagulării sugerând atât rolul ficatului în sinteza acestei glicoproteine, cât și posibilitatea creșterii sale la bolnavii cu supragreutate și hipetrigliceridemie. Există, de altfel, dovezi că VN se acumulează în peretele arterial afectat de ateroscleroză (41).

2.2.11. BETA-2 MICROGLOBULINA (β_2m)

a) **Structură și funcție.** β_2m are o greutate moleculară de abia 11.8 KD și o concentrație serică sub 0.3 mg/dl. Este alcătuită dintr-un singur lanț polipeptidic și este secretată la suprafața tuturor celulelor nucleate, reprezentând lanțul ușor al complexului major de histocompatibilitate clasa I (HLA-A, B, C). Procesul de reînprospătare (turnover) al acestei proteine la suprafața membranelor celulare este principala sursă de β_2m din ser și alte lichide biologice. Având o greutate moleculară relativ mică, β_2m trece în filtratul glomerular, fiind însă în mare măsură reabsorbită și metabolizată în celulele tubulare renale, astfel încât eliminarea urinară este de abia 0.12-0.40 mg/24 ore.

b. **Implicații în patologie.** Nivelul seric de β_2m crește în caz de scădere a filtrării glomerulare (glomerulonefrite, nefropatie diabetică). De notat că hemodializa aplicată bolnavilor cu insuficiență renală cronică nu poate preveni acumulările de β_2m în sânge, iar depunerea acestor proteine în țesuturi duce la formarea fibrilelor de amiloid. Sediul preferat de depozitare este țesutul sinovial și mai ales cel din tunelul carpian, ajungându-se la compresiunea nervului radial (sindrom de tunel carpian).

Pe de altă parte, creșterea eliminărilor urinare de β_2m atrage atenția asupra perturbării funcției tubilor renali și contribuie la depistarea precoce a intoxicațiilor cronice cu metale grele, a nefropatiei endemice balcanice și a nefropatiilor interstițiale medicamentoase.

Creșteri importante ale β_2m atât în ser cât și în urină survin în leucemiile limfoide cronice, boala Hodgkin, mielomul multiplu și macroglobulinemia Waldenström, aceste creșteri fiind corelabile cu evoluția bolii, respectiv cu masa celulelor proliferate și a celor pe cale de degradare (42,45).

2.2.12. SISTEMUL COMPLEMENT

a. **Structură și funcție.** Proteinele sistemului complement, dotate cu activități enzimatică, circulă în plasmă sub formă de zimogeni, activarea lor efectuându-se în lanț în mod succesiv printr-un proces de proteoliză limitată. Acest sistem cuprinde 20 de componente proteice care includ pe lângă zimogeni (proenzime) și inhibitori enzimatici cu rol reglator în cascada activării.

Sistemul complement intervine în liza celulelor, în chemotaxie, opsonizare, imunoaderență, fagocitoză și anafilaxie (46).

Activarea sistemului complement decurge în trei stadii succesive:

- Generarea C3 convertazei ducând la clivarea componentei C3.
- Generarea C5 convertazei și clivarea consecutivă a componentei C5.
- Asamblarea căii terminale de atac a membranei.

Generarea C3 convertazei are loc pe două căi distincte, calea clasică și calea alternativă, implicând modalități diferite de acțiune și componente proteice distincte.

Activarea căii clasice se face prin complexe imune sau agregate de imunoglobuline conținând IgG, IgA sau IgM. În urma activării, componenta C1q se leagă de regiunea CH2 a imunoglobulinelor și activează componentele C1r și C1s, în prezența ionilor de calciu. Acestea, la rândul lor activează molecula de C4 clivându-o în C4a și C4b (fig. 2.5). C4b se leagă hidrofob de membrana celulară din vecinătatea complexului antigen-anticorp, care a inițiat activarea și apoi interacționează cu molecula de C2, alcătuind complexul C4bC2a denumit convertaza C3 a căii clasice.

Activarea căii alternative este indusă de polizaharidele din pereții celulelor, de endotoxinele bacteriilor Gram-negative, IgA, factorul nefritic și unii paraziți. Toți acești agenți activatori posedă o așa-numită "suprafață activatoare", care permite formarea convertazei C3 și protejarea ei de efectul inhibitor al factorilor I și H. C3b format în urma activării C3 se leagă de suprafața activatoare și formează un complex cu factorul B, iar complexul C3bB se transformă în C3bBb sub acțiunea enzimatică a factorului D. Activitatea enzimatică a complexului C3bBb este stabilizată de către properdină (P) amplificându-și capacitatea de a activa noi molecule de C3.

În urma acțiunii celor două convertaze formate pe calea clasică și alternativă, respectiv C4bC2a și C3bBb are loc clivarea C3 cu eliberarea fragmentului C3a, cu rol în chemotaxie și anafilaxie, și a fragmentului C3b cu rol activ.

Generarea C5 convertazei are loc în urma asocierii fragmentului C3b la complexul C3 convertazei (C4bC2a) ajungându-se astfel la complexul C4bC2aC3b (pentru calea clasică) și C3bBb (pentru calea alternativă). Aceste complexe cu rol de C5 convertază clivează enzimatic componentul C5 rezultând C5a cu rol chemotactic și C5b, care se fixează la suprafața membranei celulare.

Asamblarea căii terminale se face prin reacția stoichiometrică a C5b cu componentele C6 și C7 formându-se complexul C5b-7 ancorat în membrana plasmatică a celulei. Legarea la acest complex a unei molecule de C8 și a mai multor molecule de C9 generează complexul C5b-9, care, în urma unor modificări conformaționale ale proteinelor din componenta lui, se poate insera complet în membrana celulară, formând un canal permeabil pentru apă și ioni. Tot ca urmare a modificărilor conformaționale mai sus amintite, componentele complexului C5b-9 expun așa-numiții "determinanți neoantigenici". De notat că asamblarea complexului C5b-9 poate avea loc și în faza fluidă (în absența membranei) asociindu-se cu clusterină și cu vitronectina (denumită și proteina S a complementului). Se formează astfel complexe de tipul SC5b-9 care sunt citolitic inactive (46-48).

b. Implicații în patologie. Determinarea nivelului seric al diferitelor componente, precum și a activității globale a sistemului complement prin testul CH50 (complement hemolitic total 50%) sunt de o reală utilitate în diagnosticul unor boli. Concentrații crescute se întâlnesc în procese inflamatorii acute și în genere în cursul reacției de fază acută (infecții, post-operator, infarct miocardic) precum și în puseuri evolutive ale unor boli cu inflamație cronică (spondilită anchilozantă, sclerodermie, poliartrită reumatoidă).

Scăderea concentrațiilor survine mai des în boli evoluând cu creșterea complexelor imune circulante (CIC) care, având un potențial de activare a complementului, duc la consumul unor componente ale acestui sistem. Cele mai ilustrative exemple sunt lupusul eritematos sistemic

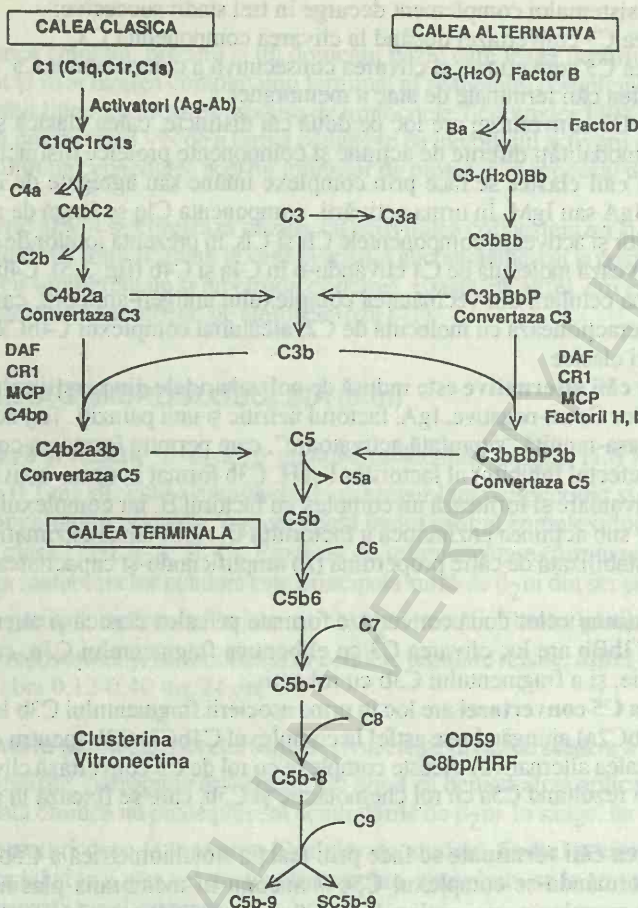


Fig.2.5. Reprezentare schematică a activării sistemului complement.

(LES). glomerulonefrite cu patogeneză imună, diverse vasculite, endocarditele bacteriene, crioglobulinemiile și rejetul acut de grefă. Se consideră că în LES, prototipul bolilor mediate prin CIC, aceste complexe circulante sau depuse în țesuturi activează sistemul complement care mediază consecutiv leziunile tisulare și întreține un proces inflamator cronic. Datele de laborator arată că, de fapt, LES se asociază cu o creștere a CIC și cu o scădere a nivelurilor serice de C1, C2, C3, C4. O dovadă a activării sistemului complement o constituie și creșterea nivelului seric de SC5b-9, precum și evidențierea prin imunofluorescență a acestor componente ale sistemului complement asociate cu imunoglobuline și depuse la nivelul glomerulilor în glomerulonefrita din LES activ (vezi fig. 2.6). Scăderi ale complementemiei, cauzate de activarea căii clasice de către CIC survin și în glomerulonefrita poststreptococică, în cea din endocarditele infecțioase precum și în crioglobulinemia esențială. Pe de altă parte, în majoritatea cazurilor de glomerulonefrite cronice, componentele sistemului complement sunt prezente în glomeruli, deși acest fenomen nu se asociază frecvent cu scăderea lor în ser.

Un caz particular de glomerulonefrită hipocomplementemică este reprezentat de glomerulonefrita membranoproliferativă, în care activarea complementului decurge pe calea alterna-



Fig. 2.6. Depozite imuno fluorescente de C5b-9 la nivel glomerular, tubular și arteriolar în puncția biopsie renală, provenită de la un caz cu lupus eritematos sistemic (imuno fluorescență indirectă x 250). După F.Niculescu și H.Rus (date nepublicate).

tivă prin intermediul factorului nefritic. Aceasta este un autoanticorp din clasa IgG, care legându-se de complexul C3bBb îl protejează față de acțiunea inhibitorilor, menținând astfel calea alternativă într-o continuă activare.

Activarea complementului printr-un mecanism similar celui din LES se observă în cursul hemodializei, în vasculitele sistemice necrotizante, periarterita nodoasă, purpura Henoch-Schönlein și crioglobulinemiile mixte. În toate aceste afecțiuni depunerea de complexe imune în peretele vascular determină leziuni tisulare și atragerea de limfocite și monocite. S-a reușit evidențierea unor depozite de C5b-9 atât în peretele vascular cu leziuni aterosclerotice cât și în ariile miocardice infarctate, sugerând rolul patogen al activării complementului (48-52).

Valori scăzute ale unor componente ale sistemului complement se pot datora și unor deficite cu caracter genetic. Cel mai frecvent deficit este cel care afectează parțial sau total sinteza de C1 inhibitor (C1INH), având drept urmare o activare în exces a căii clasice precum și a sistemului kininoformator. Acest deficit se soldează pe plan clinic cu așa-zisul edem angioneurotic caracterizat prin edeme spontane la nivelul feței și pleoapelor, cu debut brusc și în legătură cu infecții, traumatisme sau efort fizic. Laboratorul evidențiază, în cursul unor astfel de pusee acute, o scădere a componentelor, C3 și C4, pe fondul unei diminuări exprimate a activității C1INH. Deficitul homozigot de C2 și C4 evoluează cu infecții recurente, glomerulonefrite cronice și cu manifestări sugerând un LES care contrastează însă cu lipsa

anticorpilor antinucleari. Deficitul homozigot al componentelor căii terminale se soldează cu o pronunțată scădere a rezistenței la infecții.

2.2.13. IMUNOGLOBULINELE

a. **Structură și funcție.** S-au descris cinci clase de imunoglobuline: IgG, IgA, IgM, IgD și IgE. Toate imunoglobulinele sunt alcătuite din patru lanțuri peptidice, două lanțuri ușoare L (light) cu greutate moleculară de 22 KD și două lanțuri grele H (heavy) cu greutate moleculară de 52 KD legate între ele prin punți disulfidice (fig. 2.7). Lanțurile ușoare sunt de două tipuri: κ și λ , fiind prezente în toate clasele de imunoglobuline; fiecare moleculă de imunoglobulină posedă fie două lanțuri κ , fie două lanțuri λ . Lanțurile grele sunt de cinci tipuri, corespunzând celor cinci clase, de imunoglobuline și sunt desemnate cu literele γ pentru IgG, α pentru IgA, μ pentru IgM, δ pentru IgD și ϵ pentru IgE. Formulele moleculare pot deci fi $\gamma_2\kappa_2$ sau $\gamma_2\lambda_2$ pentru IgG, $\alpha_2\kappa_2$ sau $\alpha_2\lambda_2$ pentru IgA etc.

Papaina clivează proteolitic moleculele de imunoglobuline în trei fragmente cu greutate moleculară aproximativ egală: două fragmente posedă situsuri de combinare cu antigenul (fragmente Fab "antigen binding"), iar al treilea fragment, Fc, are rol în interacțiunea imunoglobulinei cu sistemul complement precum și cu celule active imunologic, dotate cu receptori specifici de tip Fc. Atât lanțurile grele cât și cele ușoare din fragmentele Fab posedă regiuni cu secvențe variabile (V) și constante (C) ale aminoacizilor din structură primară. Regiunile V conțin domenii cu un grad deosebit de variabilitate, denumite domenii "hipervariabile" care sunt responsabile de specificitatea legării de un anumit antigen și constituie baza marelui diversității a anticorpilor. Fiecare lanț de imunoglobulină este codificat de o singură genă distinctă, este sintetizat separat, iar întreaga moleculă de imunoglobulină este asamblată în citoplasmă după translația fiecărei componente. Grație unui mecanism de "rearanjare genetică" se asigură cooperarea mai multor locusuri genetice în sinteza unei regiuni variabile.

Imunoglobulinele din circulație sunt sintetizate de către plasmocitele din măduva hematopoietică (vezi fig.2.8). Timpul de înjumătățire în circulație diferă între diversele clase

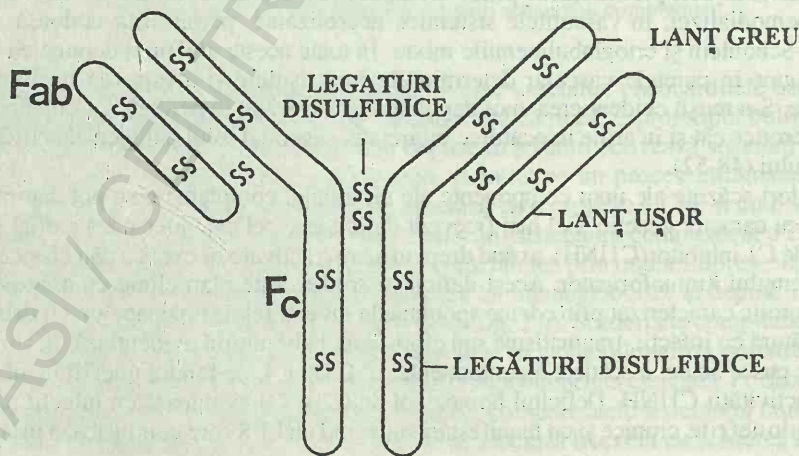


Fig.2.7. Reprezentare schematică a structurii unui monomer din molecula de imunoglobulină.

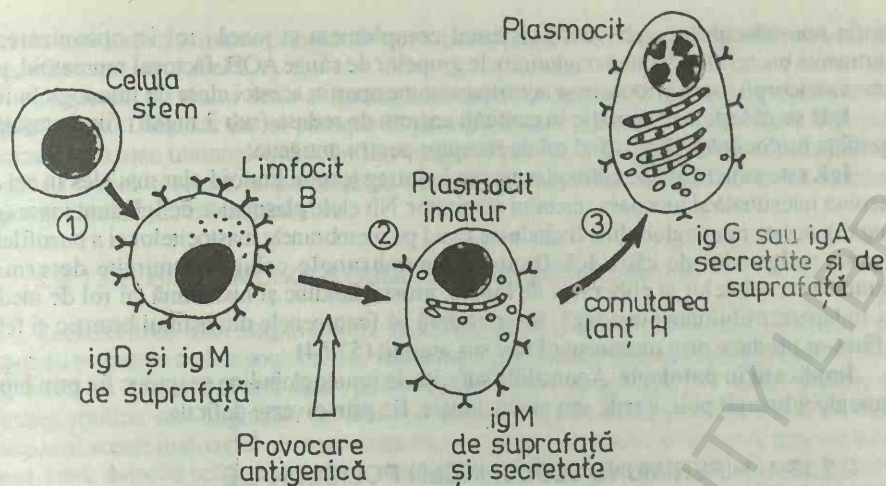


Fig.2.8. Maturarea limfocitului B ca urmare a provocării antigenice

1) limfocitul B matur, nestimulat sintetizează IgM și IgD de suprafață având în regiunea variabilă a moleculei secvențe specifice pentru un anumit antigen pentru care acționează ca receptori; 2) în cursul diferențierii spre plasmocit imatur se oprește sinteza lanțului H al IgD și crește producerea de IgM secretate, având aceeași specificitate a regiunii variabile ca și imunoglobulinele de suprafață; 3) ulterior în cursul maturației, sinteza regiunii constante a lanțului H se comută de la IgM fie spre IgG, fie spre IgA, însă cu transcrierea aceleiași gene pentru regiunea variabilă. O bună parte a imunoglobulinelor este secretată.

de imunoglobuline, fiind în medie de 23 zile pentru IgG, 6 zile pentru IgA, 5 zile pentru IgM și doar 3 zile pentru IgD și IgE. Diferitele clase de imunoglobuline diferă și în privința concentrației lor plasmatică și a semnificației funcționale.

IgG cu o greutate moleculară medie de 150 KD se află în plasmă într-o concentrație relativ mai mare decât cea a altor imunoglobuline, fiind în medie de 150 UI/ml (1200 mg/dl) cu variații fiziologice între 100 și 200 UI/ml. Exerciță funcții de blocare a antigenelor specifice și de opsonizare, având și efecte antitoxice și antivirale; IgG constituie anticorpii predominanți ai răspunsului imun secundar, activează sistemul complementar și pot trece prin placenta. S-au descris patru subclase (IgG 1-4) care diferă în funcție de structura primară a lanțurilor H.

IgA reprezintă doar 10-15% din totalul imunoglobulinelor serice, având o concentrație medie de 145 UI/ml (200 mg/dl). În plasmă au o greutate moleculară de 160 KD, dar trecând în secreții (lacrimale, salivare, gastrointestinale, lapte) formează un polimer alcătuit din două molecule de IgA, o moleculă de legătură zisă lanțul J (de la junction - legătură) și o glicoproteină denumită proteina (piesa) secretorie. Se disting două subclase de IgA: IgA₁ prevalente în ser și IgA₂ aflate mai ales în secreții și dotate cu activitate antivirală, prevenind legarea virusurilor de celulele tractelor respirator și gastrointestinal. De notat că IgA sunt rezistente la acțiunea proteolitică a sucurilor intestinale, iar prezența lor în colostru protejează nou-născutul față de infecțiile gastrointestinale.

IgM are o concentrație medie de 180 UI/ml (144 mg/dl) și circulă sub formă de pentameri ($(\mu_2k_2)_5$ sau $(\gamma_2\lambda_2)_5$ care ajung la o greutate moleculară de 950 KD. Este prima imunoglobulină sintetizată în cadrul răspunsului imun primar și este prima care apare în cir-

culația nou-născutului. Activează sistemul complement și joacă rol în opsonizarea și aglutinarea bacteriilor. Isohemoaglutininele grupelor de sânge AOB, factorul reumatoid, precum și anticorpii anti-spirochete și antitripanosome aparțin acestei clase de imunoglobuline.

IgD se găsește în circulație în cantități extrem de reduse (sub 3 mg/dl) fiind atașată la suprafața limfocitelor B și având rol de receptor pentru antigene.

IgE este sintetizată de către plasmocite în întreg țesutul limfoid, dar mai ales în cel din mucoasa intestinală și mucoasa tractului respirator. Nivelele plasmatice de IgE sunt joase (sub 1 mg/dl), aceste imunoglobuline fixându-se rapid pe membranele mastocitelor și a bazofilelor. Legarea antigenelor de către IgE fixate pe membranele celulelor amintite determină degranularea celulelor și eliberarea de kinine, prostaglandine și histamină cu rol de mediator în hipersensibilitatea imediată. Se consideră că fenomenele din astmul bronșic și febra de fân s-ar produce prin mecanismul mai sus amintit (53,54).

Implicații în patologie. Anomaliile suferite de imunoglobuline se traduc fie prin hiperimunoglobulinemii policlonale sau monoclonale, fie prin diverse deficite.

2.2.13.1. HIPERIMUNOGLOBULINEMII POLICLONALE

Răspunsul imun declanșat ca urmare a unei infecții se exprimă prin proliferarea mai multor clone de plasmocite și implicit prin creșterea mai multor clase de imunoglobuline. Acest tip de răspuns imun se datorează faptului că antigenele care l-au provocat sunt dotate cu mai mulți epitopi. Se realizează astfel o creștere globală a gama globulinelor la electroforeza serului (care realizează o bandă lată, iar la fotometrare aspect de clopot cu baza în jos), iar

Tabel 2.4.

Nivelul de imunoglobuline serice în diferite boli

Boala	IgG	IgA	IgM
Colagenoze			
Lupus eritematos sistemic	++	N/+	++
Poliartrita reumatoidă	N+++	+++	++
Sclerodermie	N/+	N	N/+
Sindrom Sjogren	N/+	N/+	N+++
Boli hepatice			
Hepatita virală acută	N/+	N/+	N+++
Hepatita cronică activă	++	+	N+++
Ciroza hepatică	+++	++	N+++
Ciroza biliară primară	N	N	+++
Boli infecțioase			
Mononucleaza infecțioasă	++	N/+	N+++
Tuberculoza	++	N/+	N/+
Endocardita bacteriană	++	N/+	+++
Actinomicoza	+++	++	+++

N = valori normale; + = valori crescute

dozarea cantitativă a imunoglobulinelor precizează care clasă de imunoglobuline sunt predominant crescute (tabel 2.4).

Creșterea nivelului seric al gamaglobulinelor și respectiv al imunoglobulinelor nu implică în mod necesar un rol patogen în generarea unor leziuni tisulare. Pentru a se putea susține implicarea imunoglobulinelor într-un pocios patologic localizat, creșterea nivelului lor în ser ar trebui corelată cu prezența de complexe imune circulante (CIC) și cu eventuale depozite tisulare de imunoglobuline.

2.2.13.2. HIPERIMUNOGLOBULINEMII MONOCLONALE

Proliferarea unei singure clone de celule de tip B se asociază cu producerea unei populații omogene de imunoglobuline, realizând hiperimmunoglobulinemia monoclonală. În ser sau urină se detectează așa-zise "paraproteine" sau "component M" care sunt de fapt imunoglobuline sau fragmente de imunoglobuline produse în exces. Din punct de vedere funcțional aceste imunoglobuline pot exercita funcția de anticorpi față de unele antigene microbiene, însă, datorită scăderii celorlalte clase de imunoglobuline se ajunge la imunodeficiență.

Entitățile mai bine definite în cadrul gamapatiilor monoclonale sunt, în ordine descrescând a incidenței lor, miclomul multiplu, macroglobulinemia Waldenström, boala lanțurilor grele și amiloidoza primară. În ansamblu, aceste boli se întâlnesc cu o frecvență de 3 cazuri noi la 100 000 indivizi pe an. Peste vârsta de 60 de ani incidența ajunge la doi la mie pe an, iar în grupa de vârstă de peste 90 de ani această incidență urcă la 17-19% pe an (15).

Transformarea malignă a celulelor limfocitare B poate surveni în diverse etape ale procesului de maturare (vezi fig.2.8).

Limfoamele cu celule B și leucemiile limfoide cronice, evoluând cu proliferarea limfocitelor de talie redusă, se caracterizează printr-o producție scăzută de imunoglobuline (exceptând mici cantități de IgM). Proliferarea survenită într-un stadiu mai avansat de maturare și, respectiv, acumularea unor forme intermediare între limfocitul B și plasmocit real-

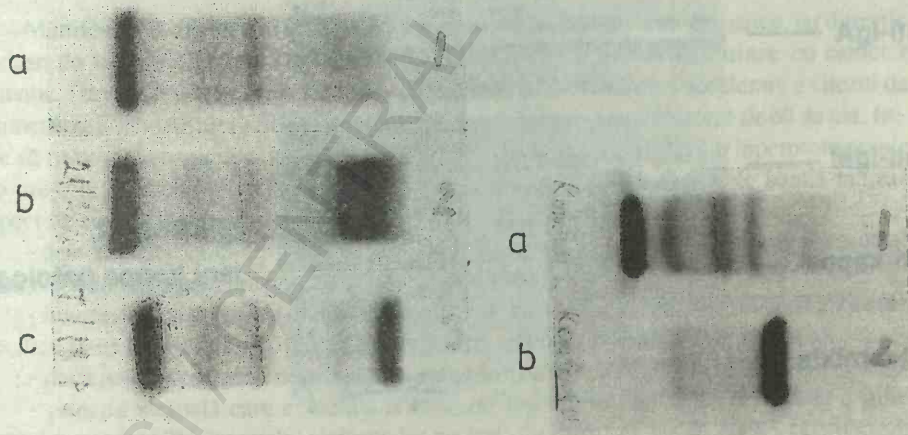


Fig. 2.9. Aspectul proteinogramei în agaroză din:

A. ser normal (a); ser cu creșterea policlonală a gamaglobulinelor (b); ser cu creșterea monoclonală a imunoglobulinelor (c).

B. Aspectul electroforetic într-un caz fără component monoclonal (M) în ser (a), dar cu prezența de lanțuri ușoare în urină (b).

izează macroglobulinemia Waldenström, evoluând cu producerea unor cantități considerabile de IgM, iar proliferarea malignă a unor clone de plasmocite, mai mult sau mai puțin mature, realizează mielomul multiplu în care se produce un exces de IgG, cu ceva mai rar IgA și cu mult mai rar IgD sau IgE.

Mielomul multiplu

Triada diagnostică clasică din mielomul multiplu constă din plasmocitoza medulară (peste 7% din totalul elementelor nucleate), leziunile osteolitice și prezența componentei M în ser sau urină. Componenta M provine din clasa de imunoglobuline ale cărei clone producătoare proliferază. În 53% din cazuri se constată creșteri ale IgG, în 25% creșteri ale IgA, iar în abia 1% a cazurilor creșteri ale IgD.

De notat că în aproximativ 20% din cazuri se produc numai lanțuri ușoare care se elimină prin urină sub forma proteinelor Bence-Jones, iar electroforeza serului evidențiază o hipogamaglobulinemie. De notat că și în condiții fiziologice, plasmocitele produc cu 10% mai multe lanțuri ușoare decât lanțuri grele, dar în cazul mielomului multiplu, producerea de lanțuri ușoare se accentuează foarte mult, astfel încât 75% dintre pacienții cu mielom prezintă eliminări urinare de lanțuri ușoare.

IMUNOELECTROFOREZA DIN SER

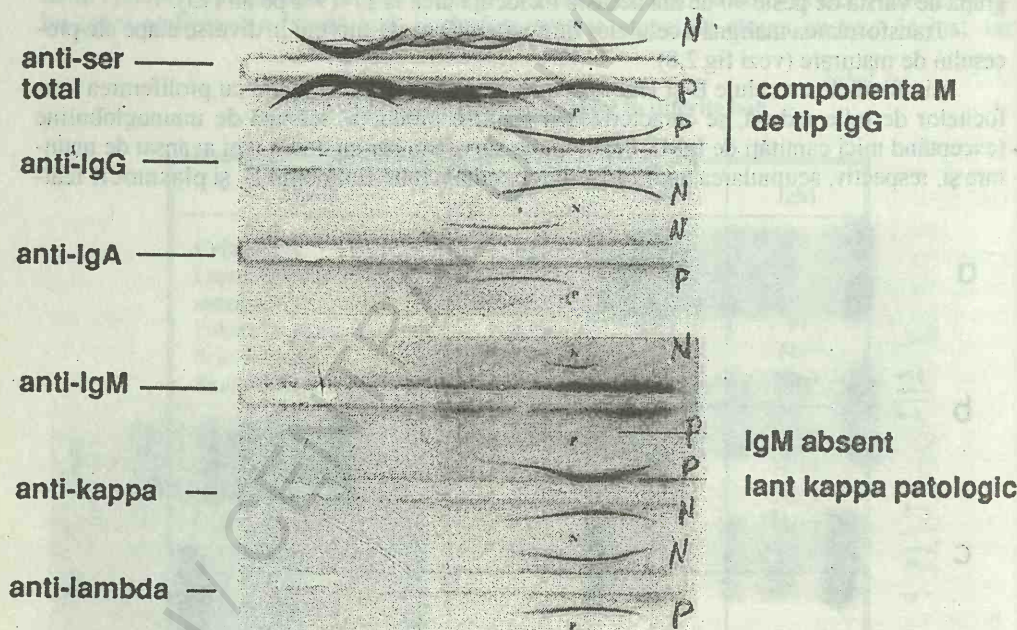
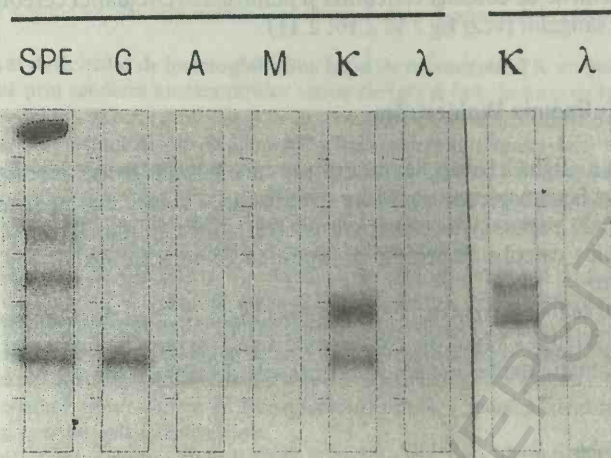


Fig. 2.10. Aspectul imunoelectroforezei serului la un bolnav cu mielom multiplu de tip IgG-k. Se constată prezența unei componente monoclonale (M) identificate prin evidențierea unui cerc de imunoprecipitare foarte exprimat, atunci când se utilizează antiserul anti IgG și cel anti-lanț ușor k. Arcul de precipitare cu anti IgA este redus, iar cel cu anti-IgM este absent. N - ser de control sănătos; P - ser de pacient cu mielom multiplu

URINA



Manifestările clinice din mielomul multiplu sunt destul de necaracteristice, iar durerile produse de leziunile osoase sunt adeseori interpretate ca dureri articulare cu caracter reumatic. Din acest motiv, orice alterare a stării generale asociată cu o accelerare a vitezei de sedimentare a hematiilor (VSH > 90 mm/oră), survenite la un subiect trecut de 60 de ani, trebuie să trezească suspiciuni, iar dacă examenul proteinelor serice relevă o hiperproteinemie și o creștere a fracțiunii electroforetice gama (mai rar beta) sub formă de bandă îngustă (aspect de pisc la fotometrare) se va trece la examinări țintite care implică:

- determinarea cantitativă a IgG, IgA, IgM. De regulă, în mielomul multiplu se constată creșterea marcată a unei singure clase (IgG sau IgA) și scăderea celorlalte clase;

- imuno-electroforeza sau imuno-fixarea serului și a urinii concentrate, utilizând antiseruri specifice (anti IgG, anti IgA), precum și antiseruri anti lanțuri ușoare (anti κ , anti λ);

- dacă aceste teste sunt negative se recurge la determinarea IgD și IgE:

- puncția sternală care evidențiază în cazul mielomului multiplu o creștere a plasmocitelor cu peste 7% din totalul elementelor nucleate ale măduvei, iar, de regulă, plasmocitele sunt dispuse în cuiburi și prezintă diverse atipii;

- radiografiile oaselor scurte și late (calotă, bazin, vertebre) evidențiază zone de osteoliză.

Examinările pot fi completate cu determinarea hemogramei care poate evidenția o anemie, o leucopenie și o trombocitopenie, dozarea ureei și creatininei serice pentru a se depista

o eventuală afectare renală, acidul uric și β_2 microglobulina (β_2m) ca măsură a degradării accelerate a plasmocitelor, calcemia, a cărei creștere poate indica distrucțiile osoase. De notat că, în majoritatea cazurilor de mielom multiplu, fosfataza alcalină se situează în limite normale. Principalele complicații care amenință viața bolnavului sunt infecțiile intercurrente, date de deficitul imun, insuficiența renală cauzată de precipitarea lanțurilor ușoare în lumenul tubilor renali, fracturile de coloană vertebrală și perturbarea circulației cerebrale consecutivă hipervâscozității sângelui (vezi fig.2.9; 2.10; 2.11).

Macroglobulinemia Waldeström

Proliferarea malignă a limfoplasmocitelor care secretă IgM se asociază de regulă cu limfadenopatie și hepatosplenomegalie iar manifestările clinice majore sunt date de hipervâscozitate, alături de anemie și de scăderea rezistenței la infecții. Alte deosebiri față de mielom sunt lipsa leziunilor osteolitice precum și faptul că eliminările urinare de lanțuri ușoare survin doar rareori.

Diagnosticul se face pe baza aspectului monoclonal al electroforezei proteinelor serice, creșterea marcată și izolată a IgM (de regulă peste 3 g/dl) și prezența în frotiul medular a limfoplasmocitelor, care de multe ori apar și în frotiurile de sânge periferic.

Boala lanțurilor grele

Aceste boli limfoplasmocitare sunt mai rar întâlnite, iar manifestările clinice diferă în funcție de isotipul de lanț greu. Astfel de bolnavi secretă un lanț greu incomplet care conține un fragment Fc intact și o depleție în regiunea Fab, în timp ce lanțurile ușoare κ și λ lipsesc. S-au descris boli ale lanțurilor grele γ (din IgG), ale lanțurilor α (din IgA) și ale lanțurilor μ (din IgM). Diagnosticul se face prin evidențierea lanțului greu în ser sau urină și prin lipsa lanțurilor ușoare. Pacienții cu boala lanțurilor grele prezintă o rezistență deosebit de scăzută față de infecții (1.55).

2.2.13.3. SINDROAME DE IMUNODEFICIENȚĂ PRIN SCĂDEREA PRODUCȚIEI DE IMUNOGLOBULINE

Cu rare excepții, deficitul imunității umorale se asociază cu valori scăzute ale nivelului seric al unei sau mai multor clase de imunoglobuline. De notat că definirea limitei inferioare a normalului întâmpină dificultăți, datorită limitelor relativ largi ale concentrațiilor serice ale imunoglobulinelor. Se consideră totuși că valori ale IgG sub 500 mg/dl (< 63 UI/ml), valori ale IgA sub 50 mg/dl (< 36 UI/ml) și valori ale IgM sub 40 mg/dl (< 50 UI/ml) pot fi interpretate în sensul unui deficit al imunității umorale. Astfel de subiecți vor fi investigați și în privința capacității lor de a elabora anticorpi specifici, cum sunt cei antistreptolizina O (ASLO) sau cei induși după vaccinarea cu anatoxină difterică sau tetanică.

Este de asemenea importantă determinarea numărului de limfocite B circulante, prin citofluorimetrie, utilizând anticorpi monoclonali specifici. Se descriu mai multe variante ale deficitului imunității umorale și există diverse clasificări bazate pe criterii complexe. În cele ce urmează se vor prezenta doar câteva exemple ilustrative.

Agamaglobulinemia legată de cromozomul X este prototipul imunodeficiențelor umorale primare, fiind denumită și agamaglobulinemia Bruton, după numele celui care a descris-o inițial. Acest sindrom apare doar la copii de sex masculin și este cauzată de absența de pe cromozomul X, a genei care codifică o kinază implicată în sinteza imunoglobulinelor. Deficitul se manifestă prin infecții recurente care apar încă din primul an de viață, iar laboratorul evidențiază o scădere marcată a valorilor IgG, IgA și IgM. Subiecții afectați prezintă o scădere a limfocitelor B circulante și un deficit al foliculilor limfatici primari și secundari, dar limfocitele T nu sunt afectate. Tratamentul constă în administrarea de imunoglobuline.

Sindromul deficitului de imunoglobuline legat de cromozomul X evoluând cu IgM crescut se caracterizează prin scăderea concentrațiilor serice ale IgG și IgA, în timp ce IgM și IgD apar crescute. Se asociază cu hiperplazie limfoidă și neutropenie, iar clinic se manifestă prin infecții recurente. Tratamentul constă în administrarea de gamaglobuline asociată antibioterapiei.

Imunodeficitul comun variabil include un grup heterogen de adulți de ambele sexe, caracterizați prin scăderi în grade diferite a IgG, IgA și IgM (cu valori normale sau chiar crescute de IgE). De notat că numărul de limfocite B nu este scăzut. Acest deficit trebuie căutat la adulții care prezintă infecții pulmonare cronice, gastrită atrofică, malabsorbție sau boli intestinale.

Deficitul selectiv de IgA este forma cea mai frecvent întâlnită având o incidență în populație de 1/500 și fiind caracterizat prin scăderea ambelor subclase de IgA. Mulți astfel de subiecți sunt aparent sănătoși, în timp ce alții dezvoltă infecții respiratorii recurente, diaree cronice și o mare incidență a infecției cu Giardia (lambliază). Subiecții cu deficit de IgA prezintă o predispoziție pentru bolile evoluând cu complexe imune (de exemplu lupusul eritematos sistemic și poliartrita reumatoidă). Tratamentul este doar simptomatic, deoarece administrarea de gamaglobuline sau de plasmă poate duce la apariția de anticorpi anti-IgA și la manifestări anafilactice.

Sindromul de hiperimunoglobulinemie E (sindromul Job) este o boală cu debut în copilărie, manifestată prin infecții recurente, mai ales stafilococice la nivel tegumentar și pulmonar. Laboratorul evidențiază o creștere a nivelului serie IgE, eozinofilie moderată și deficit în funcția neutrofililor (56).

Hipogamaglobulinemia tranzitorie a nou-născutului apare între a treia și a șasea lună de viață și se datorează faptului că IgG provenite transplacentar de la mamă au fost catabolizate, în timp ce sinteza propriilor imunoglobuline este abia la început. Acest deficit se rezolvă de regulă spontan.

Pe lângă deficiențele umorale amintite mai sus s-au depistat și anomalii complexe afectând atât limfocitele B cât și limfocitele T și care incumbă și un deficit al imunității celulare. Descrierea acestor deficiente complexe ar depăși însă scopul acestui capitol axat pe anomaliile proteinelor plasmatice.

2.3. TIPURI DE DISPROTEINEMIE

Conform celor relatate pe parcursul acestui capitol, concentrațiile diverselor proteine plasmatice se modifică în extrem de numeroase stări patologice. Interpretarea acestor modificări este ușurată de faptul că ele pot fi încadrate în câteva tipuri de disproteinemie care pot fi diferențiate prin simpla electroforeză a proteinelor serice. Principalele aspecte realizate de proteinogramă în patologia clinică sunt relatate în figura 2.12.

a. Disproteinemia reactivă din inflamația acută se caracterizează prin creșterea fracțiunilor electroforetice α_1 și α_2 , iar analiza diferențiată prin metode imunochimice relevă creșterea reactanților de fază acută (α_1 AT, α_1 CT, α_1 glicoproteina acidă, haptoglobinele, CRP și ceruloplasmina) în timp ce albumina serică, colinesteraza serică, transferina și lipoproteinele scad. Creșterea fibrinogenemiei duce la accelerarea VSH. Rolul citokinelor în declanșarea acestor modificări a fost prezentat la începutul acestui capitol.

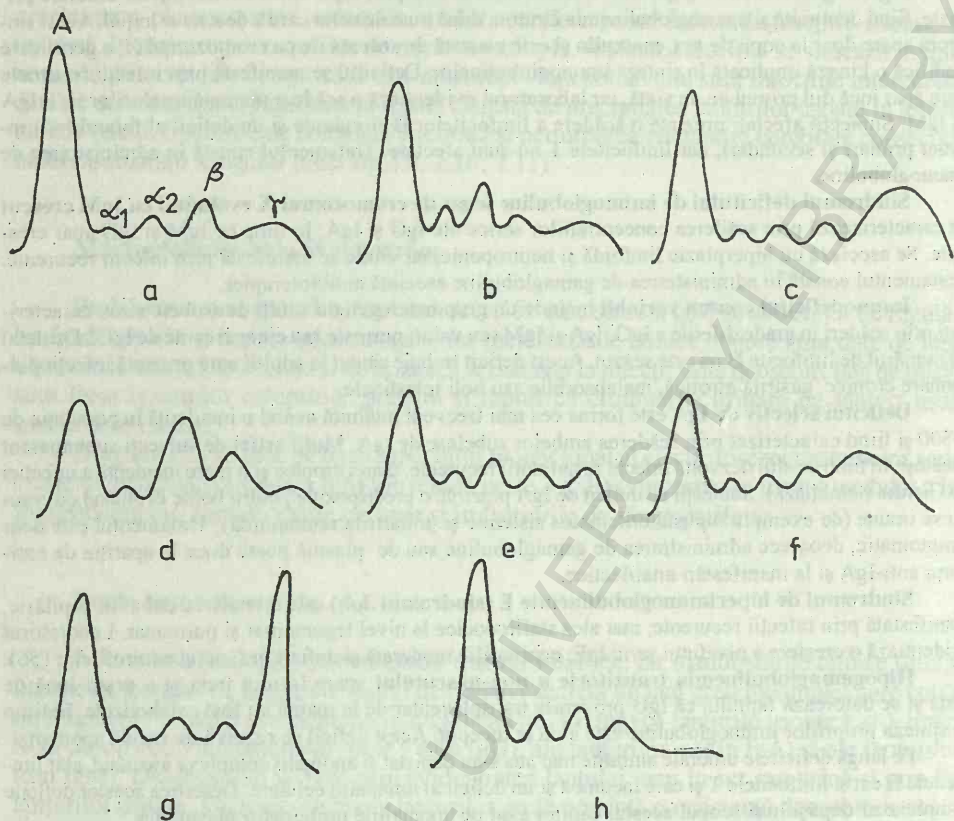


Fig. 2.12. Tipuri de disproteinemie (exemple ilustrative).

a) aspect normal (vezi tabel 2.1.a); b) inflamația acută; c) inflamație cronică; d) sindrom nefrotic; e) enteropatie exudativă; f) ciroză hepatică; g) hiperimmunoglobulinemie monoclonală; h) hipogamaglobulinemie.

Graficele reprezintă aspecte realizate prin fotometrarea foreogramelor.

b. Disproteinemia reactivă din inflamația cronică este caracterizată prin creșterea gamaglobulinelor, consecutivă proliferării reactive a mai multor clone de plasmocite. Creșterea imunoglobulinelor are deci un caracter policlonal, dar unele clase de imunoglobuline pot crește mai mult în anumite boli (vezi tabel 2.4). De notat că în cursul unui puseu evolutiv al unui proces inflamator cronic se poate ajunge la o creștere a α_1 și α_2 globulinelor precum și a fibrinogenemiei. Merită subliniat faptul că în endocardita infecțioasă subacută cresc mai ales gamaglobulinele, pe când într-o endocardită reumatică recidivantă predomină creșterea α_2 globulinelor.

c. Disproteinemia prin pierderea urinară de proteine se întâlnește în sindromul nefrotic. Aspectul caracteristic este dat de scăderea proteinelor totale, scăderea albuminemiei și creșterea marcată a α_2 globulinelor și în mai mică măsură a β globulinelor; în formele severe se mai constată o scădere a gamaglobulinelor. Principala cauză a acestor modificări este

creșterea permeabilității filtrului glomerular față de proteine. De fapt, pierderile urinare interesează mai ales proteinele cu greutate moleculară relativ joasă (albumina, α_1 AT, α_1 CT, α_1 GA, AT III, transferina) în timp ce proteinele și lipoproteinele cu greutate moleculară mare (α_2 M, fibrinogen, IgM, lipoproteinele, colinesteraza serică, fibronectina, factorul XIII) sunt reținute. Această reținere nu poate explica însă, pe deplin, creșterea în valori absolute a unor proteine plasmatică cu greutate moleculară ridicată (De ex. α_2 M crește la valori duble sau triple față de media normalilor). În realitate, scăderea presiunii coloidosmotice cauzată de pierderi urinare de albumină, stimulează global sinteza hepatică de proteine, iar cele cu greutate moleculară mare se rețin. De notat că factorii coagulării dependenți de vitamina K (protrombina, factorii VII, IX și X precum și proteina C a coagulării) nu se pierd prin urină deși au greutatea moleculară relativ joasă (50-70 KD). Această comportare particulară se datorează faptului că factorii menționați sunt prevăzuți cu grupări γ -carboxiglutamice care le conferă o puternică încărcare electronegativă, fiind respinși de membrana electronegativă a capsulei Bowman.

d. Disproteinemia prin pierderea enterală de proteine survine în enteropatia exsudativă și este cauzată de o creștere a permeabilității tractului digestiv pentru substanțe macromoleculare, fapt demonstrabil prin urmărirea apariției în suc intestinal și în materiile fecale a albuminei serice marcate cu ^{131}I și injectată intravenos. Întrucât proteinele ajunse în lumenul digestiv sunt supuse atacului enzimelor proteolitice din sucurile digestive, se ajunge la o hiperaminoacidemie și hiperaminoacidurie. Aceste observații denotă că pierderea de proteine în tubul digestiv este parțial compensată prin absorbția intestinală de aminoacizi. Se ajunge totuși la hipoproteinemie, dar aspectul proteinogramei diferă de cel întâlnit în sindromul nefrotic, respectiv α_2 globulinele nu sunt atât de crescute, iar hiperlipoproteinemia lipsește.

e. Disproteinemia din afecțiunile hepatice realizează aspecte diferite în funcție de etiologie și de stadiul evolutiv al hepatopatiei.

Modificările proteinogramei din **hepatita virală acută** sunt puțin exprimate și necaracteristice, având o valoare diagnostică redusă, mai ales în comparație cu creșterea impresionantă a aminotransferazelor.

În sindromul posthepatitic, creșterea gamaglobulinelor atrage atenția asupra evoluției spre cronicizare. Ca și în alte inflamații cronice, creșterea gamaglobulinelor la bolnavii cu **hepatită cronică** realizează un aspect policlonal, iar această creștere se accentuează în **cirozele hepatice**. De notat că în **angiocolite** și în **cirozele biliare** se evidențiază o creștere moderată a α_2 globulinelor în timp ce creșterea gamaglobulinelor este mai puțin exprimată decât în hepatitele cronice. În stadiile de debut ale **neoplaziilor hepatice** electroforeza proteinelor serice are o valoare diagnostică redusă, dar în adenocarcinomul hepatic cu ciroză, la scăderea albuminelor și la creșterea gamaglobulinelor se asociază o creștere exprimată a fracțiunii electroforetice α_1 . Metode imunologice permit evidențierea unei α_1 globuline fetale, alfafetoproteina, care, dacă prezintă valori mult crescute (peste 500 ng/ml) sau atunci când cresc de la o examinare la alta, sugerează un carcinom hepatic primitiv.

f. Disproteinemia hiperimmunoglobulinemiilor monoclonale (mielom, macroglobulinemie Waldenström, boala lanțurilor grele) prezintă un aspect caracteristic, cu o bandă îngustă intens colorată în domeniul gama și mai rar beta, care la fotometrare realizează o undă în pisc. Aceste anomalii au fost descrise în legătură cu patologia imunoglobulinelor.

g. Agamaglobulinemia realizează un aspect caracteristic (vezi fig. 2, 12) iar cauzele care duc la acest aspect au fost prezentate anterior.

Datele din literatură se referă la așa-numitele **disproteinemii prin defect** cauzate de deficite ale aparatului genetic, care codifică sinteza unei proteine plasmatică. În principiu, fiecare

proteină plasmatică poate fi afectată de un deficit genetic ducând fie la diminuarea sintezei fie la o mutație care îi afectează funcțiile. În prezentul capitol principalele astfel de defecte cum sunt analbuminemia, deficitul de inhibitori ai proteazelor, deficitul de transferină și deficitul de imunoglobuline au fost prezentate în legătură cu structura și funcția acestor proteine plasmactice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Cucuianu, M., Rus, H.G., Niculescu F., Vonica, A. Biochimie. Aplicații clinice. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1991.
2. Cucuianu, M., Triș, I., Cucuianu A. Hemostaza. Biochimie. fiziopatologie Clinică. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1994.
3. Bowman, B.H. Hepatic plasma proteins. Academic Press Inc. San Diego, 1993, p.50.
4. Bonifacio, I.S. Reversal of fortune for nascent proteins. *Nature*, 1996, 384, 405-406.
5. Dinarello, C.A. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv. Immunol.* 1989, 44:153.
6. Kishimoto, T., Akira, S., Taga, T. Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines. *Science*, 1992, 258: 593.
7. Baumann, H. Acute phase reaction. *In Vitro Cell Dev. Biol.*, 1989, 21: 115.
8. Baumann, H., Gauldie, J. The acute phase response. *Immunol. Today*, 1994, 15: 74.
9. Rus, H.G., Kim, L.M., Niculescu, F.I., Shin, M.L. Induction of C3 expression in astrocytes is regulated by cytokines and Newcastle disease virus. *J. Immunol.* 1992, 148: 928.
10. Gauldie, J., Richards, C., Baumann, H. IL-6 and the acute phase reaction. *Res. Immunol.*, 1992, 143: 755.
11. Rokita, H., Bereta, J., Koj, A., Gordon, A.H., Gauldie, J. Epidermal growth factor and transforming growth factor-beta differently modulate the acute phase response elicited by interleukin-6 in cultured liver cells from man, rat and mouse. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 1990, 95: 41.
12. Halloran, P.F., Cockfield, S.M., Madrenas, J. The mediators of inflammation (interleukin-1, interferon- and tumor necrosis factor) and their relevance to rejection. *transplant Proc.*, 1989, 21: 26.
13. Latchman, D.S. Transcription-factor mutations and disease. *N. Engl. J. Med.* 1996, 334: 28.
14. Lenardo, M.J., Baltimore, D. NF-kappa B: a pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control. *Cell*. 1989, 58: 227.
15. Whicher, J.T. Abnormalities of plasma proteins in Williams and Marks (Editors). *Biochemistry in Clinical practice*. William Heinmann Medical Books London, 1983, 221-251.
16. Bowman, B.H., Yang, F. DNA sequencing and chromosomal locations of human plasma protein genes. In "The Plasma proteins: Structure, Function and Genetic Control" (F.W. Putman, ed) 2nd ed., 1987 vol.5, p.1. Academic press, Orlando, Florida.
17. Mackiewicz, A., Ganapathi, M.K., Schultz, D., Brabenec, A., Weinstein, J., Kelley, M.F., Kushner, I. Transforming growth factor beta 1 regulates production of acute-phase proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1990, 87: 1491.
18. Owen, M.C., Brennan, S.O., Lewis, J.H., Carrell, R.W. Mutation of antitrypsin to antithrombin, alpha 1-antitrypsin Pittsburgh (358 Met leads to Arg), a fatal bleeding disorder. *N. Engl. J. Med.*, 1983, 309-694.

19. Carrell, R.W., Alpha₁-Antitrypsin: molecular pathology, leukocytes and tissue damage. *J.Clin. Invest.* 1986, 78: 1427.
20. Carrell, R.W., Aulak, K.S., Owen, M.C. The molecular pathology of the serpins. *Mol. Biol. Med.* 1989, 6: 35.
21. Cox, D.W., Levison, H. Emphysema of early associated with a complete deficiency of alpha 1-antitrypsin (null homozygotes). *Am. Rev. Dis.*, 1988, 137-371.
22. Sifers, R.N., Shen, R.F., Woo, S.L. Genetic control of human alpha 1-antitrypsin. *Mol. Biol. Med.* 1989, 6: 127.
23. Sottrup-Jensen, L. α_2 macroglobulin and related thiol ester proteins. In "The plasma Proteins: Structure, Function and Genetic Control" (F.W. Putman, ed.) Academic Press, New York, 1987, vol. 5, p. 192.
24. van der Sluijs, P., Meijer, D.K. Binding of drugs with a quaternary ammonium group to alpha-1 acid glycoprotein and asialo alpha-1 acid glycoprotein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1985, 234, 703.
25. Singh, V.K., Fudenberg, H.H. Phencyclidine-induced immuno-depression, immunocyte receptor sites and protective effect of -1 acid glycoprotein. In "Sigma Phencyclidine-like Compounds as molecular probes in Biology" (H.H. Fudenberg, ed), NPP Books, Ann Arbor, Michigan, 1988, 653.
26. Robey, F.A., Jones, K.D., Tanaka, T., Liu, T.Y. Binding of C-reactive protein to chromatin and nucleosome core particles. A possible physiological role of C-reactive protein. *J. Biol. Chem.*, 1984, 259: 7311.
27. Kushner, I. C-reactive protein and the acute-phase response. *Hosp. Pract.* 1990, 25: 13.
28. Sipe, J.D. Induction of the acute-phase serum protein SAA requires both RNA and protein synthesis. *Br. J. Exp. Pathol.* 1978, 59: 305.
29. Sipe, J.D., Vogel, S.N., Douches, S., Neta, R. Tumor necrosis factor/cachectin is a less potent inducer of serum amyloid A synthesis than interleukin-1. *Lymphokine Res.* 1987, 6: 93.
30. Sack, G.H., Jr., Talbot, C.C. Jr. The human serum amyloid A (SAA)-encoding gene GSAA1: nucleotide sequence and possible autocrine-collagenase-inducer function. *Gene*, 1989, 84: 509.
31. Skinner, M., Cohen, A.S. Amyloid P component. *Methods Enzymol.* 1988, 163, 523.
32. Hawkins, P.N., Lavender, J.P., Pepys, M.B. Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with ¹²³I-labelled serum amyloid P component. *N. Eng. J. Med.* 1990, 323, 508.
33. Bowman, B.H., Yang, F.M., Adrian, G.S. Transferrin: evolution and genetic regulation of expression. *Adv. Genet.* 1988, 25: 1.
34. De Jong, G., van Dijk, J.P., van Eijk, H.G. The biology of transferrin. *Clin. Chim. Acta*, 1990, 190-1.
35. Hynes, R.O. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell*, 1987, 48: 549.
36. Sekiguchi, J.H., Shiri, A., Zardi, L., Hakomori, S. Differences in domain structures between human fibronectin isolated from plasma and culture supernatants of normal and transformed fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 5105.
37. Cucuianu, M., Rus, H.G., Cristea, A., Niculescu, F., Bedecleanu, D., Porutiu, D., Roman, S. Clinical studies on plasma fibronectin and factor XIII: with special reference to hyperlipoproteinemia. *Clin. Chi. Acta.* 1985, 147: 273.
38. Rus, H.G., Cucuianu, A.M., Galca, F., Cristea, A., Uza, G., Cucuianu, M. Plasma fibronectin in peripheral arterial disease. *Rev. Roum. Med. Int.*, 1985, 23: 271.
39. Cucuianu, M., Bodizs, G., Duncea, I., Colhon, D. Plasma fibronectin in overweight men and women: correlation with serum triglyceride levels and serum cholinesterase activity. Blood coagulation and fibrinolysis, 1996, 7, 779.

40. Preissner, K.T. Structure and biological role of vitronectin. *Ann.Rev.Cell.Biology*, 1991, 7: 275.
41. Niculescu, F., Rus, H.G., Poruțiu, D., Ghiurca, V., Vlaicu, R. Immuno-electron-microscopic localization of S-protein/vitronectin in human atherosclerotic wall. *Atherosclerosis*, 1989, 78: 197.
42. Revillard, J.P., Vincent, C. Beta₂ microglobulin. *Nouv.Presse Med.*, 1976, 5: 2707.
43. Engstrom, W., Hyldahl, L., Wahrgren, P. Urinary excretion of beta₂ microglobulin in myeloma patients. *Clin.Chim.Acta*, 1980, 108: 369.
44. Schaeffler, J., Ehlerding, G., Folge, J., Koch, K.M., Shaldon, S. Beta₂ microglobulin amyloidosis: why and how to look for it. *Clin., Nephrol.*, 1995, 44: Suppl. 1: S3.
45. Schambeck, C.M., Barti, R., Hochtlen-Vollmar, W., Wick, M., Lamerz, R., Fateh-Moghadam, A. Characterization of myeloma cells by means of labeling index, bone marrow histology, and serum beta₂-microglobulin. *Am.J.Clin.Pathol.*, 1996, 106: 64.
46. Shin, M.L., Rus, H.G., Niculescu, F.I. Membrane attack by complement. *Biomembranes*, 1996, 4: 123.
47. Shin, M.L., Carney, D.F. Cytotoxic action and other metabolic consequence of terminal complement proteins. *Prog.Allergy*, 1988, 40: 44.
48. Bhakdi, S., Trantum-Jensen, J. Damage to mammalian cells by proteins that form transmembrane pores. *Rev.Physiol.Biochem.Pharmacol.*, 1987, 107: 147.
49. Rus, H.G., Niculescu, F., Vlaicu, R. Presence of C5b-9 complement complex and S-protein in human myocardial areas with necrosis and sclerosis. *Immunol.Lett.*, 1987, 16: 15.
50. Rus, H.G., Niculescu, F., Nanulescu, M., Cristea, A., Florescu, P. Immunohistochemical detection of the terminal C5b-9 complement complex in children with glomerular diseases. *Clin.Exp.Immunol.*, 1986, 65: 66.
51. Rus, H.G., Cristea, A., Gherman, M., Niculescu, F., Gavan, M. Immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Rev.Roman.Med.Int.*, 1983, 21: 289.
52. Niculescu, F., Hugo, F., Rus, H.G., Vlaicu, R., Bhakdi, S. Quantitative evaluation of the terminal C5b-9 complement complex by ELISA in human atherosclerotic arteries. *Clin.Exp.Immunol.*, 1987, 69: 477.
53. Janeway, C.A., Travers, P. Immunobiology. The immune system in health and disease. Garland Publication Inc. New York, 1996.
54. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S. Cellular and Molecular Immunology, 1996, W.B.Sanders, Philadelphia.
55. Bronet, J.C., Fermand, J.P. Multiple Myeloma. In: Samter's Immunologic Diseases. Ed. Frank, M.M., Austen, K.F., Claman, H.N., Unanue, E.R., Little Brown & Co., Boston, 1995, 623-636.
56. Waldmann, T.A., Nelson, D.L. Immunodeficiency syndrome. In: Samter's Immunologic Diseases. Ed. Frank, M.M., Austen, K.F., Claman, H.N., Unanue, E.R., Little Brown & Co., Boston, 1995, 387-430.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Care dintre proteinele și enzimele de mai jos prezintă o scădere a nivelului lor plasmatic în cursul reacției de fază acută indusă de citokinele proinflamatorii:

- | | |
|------------------------------|--|
| A. α_1 antitripsina | E. Fibrinogenul |
| B. Ceruloplasmina | F. Albumina serică |
| C. Colinesteraza serică | G. Transferina |
| D. Proteina C reactivă (CRP) | H. α_1 glicoproteina acidă |
| | I. Inhibitorul activării plasminogenului (PAI-1) |

2. Stabiliți corespondența între deficiențele cu caracter familial ale unor inhibitori de proteaze și consecințele pe plan clinic:

- | | |
|---------------------------------------|---|
| A. Deficit de α_1 antitripsina | I. Tromboze recurente la vârstă tânără |
| B. Deficit de antitrombină III | II. Hemoragii prelungite după extracții dentare |
| C. Deficit de α_2 antiplasmină | III. Emfizem panlobular |
| D. Deficit de C1 inhibitor | IV. Edem angioneurotic |

3. Care din proteinele de mai jos prezintă de regulă creșteri marcate la bolnavii cu sindrom nefrotic sever:

- | | |
|----------------------------|------------------------------|
| A. Albumină serică | E. α_2 macroglobulina |
| B. α_1 antitripsina | F. Fibrinogenul |
| C. Colinesteraza serică | G. Imunoglobulina G |
| D. Betalipoproteinele | H. Transferina |
| | I. Antitrombina III |

4. Care din anomaliile depistabile prin metode de laborator nu se întâlnește la bolnavi cu boala lanțurilor grele:

- A. Creșterea plasmocitelor în frotiul de sânge medular la valori peste 7% din totalul elementelor nucleate.
- B. Prezența unui fragment de lanț greu al unei anumite imunoglobuline în ser și urină.
- C. Creșterea exprimată în ser și urină a lanțurilor K sau λ .

5. Stabiliți corespondența între proteinele plasmatice de mai jos și funcția lor:

- | | |
|-------------------|--|
| A. Transferina | I. Rol în repararea țesuturilor |
| B. Fibronectina | II. Transportă fierul spre organele prevăzute cu receptori |
| C. Vitronectina | III. Leagă hemoglobina într-un complex care este rapid captat de macrofage |
| D. Haptoglobinele | IV. Inhibă complexul terminal al sistemului complement: leagă PAI-I fără a-i reduce activitatea. |

6. Având greutatea moleculară deosebit de ridicată, resturile de VLDL, resturile de chilomicroni, α_2 macroglobulina și factorul von Willebrand se catabolizează de preferință:

- A. în ficat
- B. în endoteliile vasculare
- C. în celulele tubilor renali
- D. în aceeași măsură în toate aceste țesuturi

7. Care sunt complicațiile care amenință viața unui bolnav cu mielom multiplu:

- A. Infecții intercurrente favorizate de deficitul imun
- B. Insuficiența renală cauzată mai ales de precipitarea lanțurilor ușoare în tubii renali
- C. Tulburări de circulație cerebrală datorită hipervâscozității
- D. Toate acestea
- E. Nici una din ele.

8. α_2 macroglobulina prezintă creșteri importante în cursul reacției de fază acută deoarece face parte din familia serpine.

9. α_1 antitripsina crește în cursul reacției de fază acută deoarece sinteza sa este stimulată de citokine.

10. Mutația 358 Met \rightarrow Arg în moleculă α_1 antitripsină se soldează cu hemoragii deoarece această mutantă (mutanta Pittsburg) inhibă trombina.

11. Nivelul plasmatic de antitrombină III scade în sindromul nefrotic, deoarece acest inhibitor de proteaze este sintetizat în ficat.

12. Nivelul plasmatic de fibronectină crește la subiecții cu obezitate androidă deoarece acești subiecți prezintă de regulă o scădere a activității colinesterazei serice.

13. În majoritatea cazurilor de mielom multiplu se constată o hipoproteinemie deoarece acești bolnavi elimină prin urină lanțuri ușoare de imunoglobuline.

14. Bolnavii cu macroglobulinemie Waldenström prezintă o susceptibilitate crescută la infecții deoarece prezintă o creștere marcată a IgM și o hiperviscozitate a serului.

Cheia pentru răspunsuri la întrebările 8-14:

- a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
- b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
- c. prima afirmație coerctă, a doua incorectă
- d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
- e. ambele afirmații incorecte.

3. CONCEPTE DE BAZĂ ÎN INTERPRETAREA VARIAȚIILOR PATOLOGICE ALE ENZIMELOR SERICE

După enzimologi (24.25.27) viața ar fi o funcție armonioasă a enzimelor, iar bolile s-ar putea defini ca fiind deficite sau dezordini ale sistemelor enzimatic. O astfel de definiție, voit exagerată, este desigur menită să atragă atenția asupra importanței sistemelor enzimatic, a căror perturbare se situează între verigile patogenice cele mai importante.

Pentru practica clinică este în primul rând important de a stabili mecanismele care duc la modificări ale enzimelor detectabile prin metodele laboratorului clinic, respectiv de a se preciza valoarea diagnostică și limitele determinărilor de enzime.

Pe de altă parte, hormonii, citokinele și o mare parte a medicamentelor acționează prin intermediul sistemelor enzimatic, stimulând sau inhibând aceste sisteme prin diverse mecanisme. Din acest motiv este necesară o scurtă trecere în revistă a unor probleme cu caracter mai general privind noțiunea de enzimă, localizarea intracelulară a enzimelor, clasificarea și mecanismul de acțiune a enzimelor, factorii de care depinde viteza unei reacții enzimatic, precum și mecanismele de activare, de degradare și de eliminare din organism a diverselor enzime.

3.1. DATE GENERALE PRIVIND ENZIMELE

Enzimele sunt proteine produse de celulele vii și dotate cu funcții catalitice specifice. Ele catalizează reacții enzimatic care, în lipsa lor, ar putea decurge doar foarte lent sau la temperaturi ridicate incompatibile cu viața. În calitatea lor de catalizatori, enzimele sunt dotate cu următoarele proprietăți: sunt eficiente în cantități mult mai reduse decât substanțele pe care le transformă și care poartă denumirea de substrate; rămân practic neschimbate la sfârșitul reacției catalizate; nu modifică echilibrul unei reacții reversibile dar accelerează viteza cu care acest echilibru este atins.

Totodată, în calitatea lor de proteine, enzimele prezintă toate caracteristicile legate de structurile compușilor proteici, putând fi denaturate de agenți care le alterează conformația și putând fi separate și purificate cu ajutorul tehnicilor utilizate în studiul proteinelor.

O proprietate importantă a reacțiilor enzimatic care au loc în celulele vii (*in vivo*) constă în posibilitatea de a fi susceptibile față de o reglare biologică, putându-și crește sau limita activitatea în funcție de anumite semnale și oarecum în funcție de necesități.

Întrucât marea majoritate a reacțiilor biochimice sunt catalizate de enzime specifice, numărul de enzime descoperite și descrise este în continuă creștere depășind la ora actuală cifra de 2000.

3.1.1. CLASIFICAREA ȘI NOMENCLATURA ENZIMELOR

Conform recomandării Comisiei pentru enzime (Enzyme Commission) a Uniunii Internaționale de biochimie, denumirea enzimelor se bazează pe următoarele criterii:

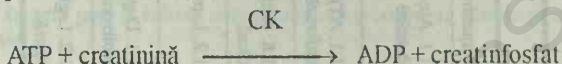
A. Enzimele se împart în 6 clase principale în funcție de tipul reacției catalizate (vezi tabel 3.1).

B. Numele fiecărei enzime are două părți. Prima parte indică substratul sau substratele asupra cărora acționează enzima; a doua parte a denumirii indică tipul de reacție catalizată, iar la sfârșit se adaugă sufixul *ază*.

C. Informații suplimentare privind eventualele particularități ale reacției catalizate pot fi date în paranteză.

D. Fiecare enzimă are un număr de cod: prima cifră indică tipul de reacție (clasa de enzime); eventuala subclasificare este semnalată de următoarele două cifre iar a patra cifră indică enzima individuală din respectiva clasă. Numărul de cod este precedat de inițialele EC (Enzyme Commission).

Așa de exemplu creatinkinaza (CK, notată și CPK) care catalizează reacția



ar avea ca denumire științifică: ATP - creatinfosfotransferază iar numărul de cod ar fi EC 2.7.3.2 (2 pentru clasa transferazelor, 7 pentru subclasa fosfotransferazelor, 3 pentru grupul de fosfotransferaze având ca acceptor un radical nitrogen, iar 2 pentru locul enzimei în cadrul sub-grupeii).

Conform aceluiași principiu, o serie de enzime determinate în mod curent în laboratorul clinic ar căpăta denumiri recomandate de EC. De exemplu:

- transaminaza glutamic oxalacetică (GOT) ar deveni EC 2.6.1.1. L-aspartat-2-oxoglutarat aminotransferază (ASAT sau AST);
- transaminaza glutamic-piruvică (GPT) s-ar denumi corect EC 2.6.1.2. L-alanin-2 oxoglutarat aminotransferază (ALAT sau ALT);
- lactatdehidrogenaza (LDH) s-ar denumi EC 1.1.1.27. L-lactat NAD oxidoreductază;
- colinesterază serică (CHE) s-ar defini ca EC 3.1.1.8 acilcolinacilhidrolază.

Astfel de denumiri și numere de cod facilitează găsirea enzimelor în cataloage și evită confuziile, dar îngreunează comunicarea rapidă între secțiile clinice (incluzând și personal mediu) și laborator. Din acest motiv, denumirile uzuale ale enzimelor (și de cele mai multe ori doar prescurtările acestor denumiri) înrădăcinate în patologia clinică se vor folosi pe parcursul acestui capitol.

3.1.2. STRUCTURA ȘI MECANISMUL DE ACȚIUNE ALE ENZIMELOR

Perfecționarea tehnicilor de separare și purificare ale enzimelor, alături de studii de difracție a razelor X de către un cristal de protein-enzimă, precum și stabilirea de corelații între activitatea unei enzime și eventualele modificări induse în compoziția în aminoacizi a enzimei au permis o mai bună înțelegere a structurii enzimelor și totodată a mecanismului de acțiune.

Orice enzimă prezintă un **centru activ** în care diverșii radicali aminoacidici sunt aranjați spațial în așa fel încât să permită fixarea și modificarea substratului. Așa de exemplu centrul activ al colinesterazei conține acid glutamic (radical acid COO-) de care se fixează gru-

Tabel 3.1.

Clasificarea și nomenclatura enzimelor

Clasa	Reacții catalizate	Exemple de subclase	Exemplu ilustrat cu:	
			Denumirea științifică	Denumirea uzuală
1. Oxidoreductaze	Oxidarea unui substrat (S) concomitent cu reducerea altuia (S'); S redus + S' oxidat \rightarrow S' redus + S oxidat	1-1 Acționând asupra grupării CH-OH	EC 1.1.1.1. Alcool-NAD oxidoreductază	Alcool dehidrogenază
2. Transferaze	Transferul unei grupări G de pe un substrat pe altul SG+S' \rightarrow S+SG	2-7 Transfer de grupări fosfat (fosfotransferaze)	EC 2.7.1.1. ATP-D-hexozo-6fosforanferază	Hexokinază
3. Hidrolaze	Hidroliza legăturilor eter, ester, peptid, glicozil;	3-1 Acționând asupra legăturii ester	EC 3.1.1.8. Acilcolin-acilhidrolază	Colinesterază
4. LIAZE	Îndepărtează grupări de pe substrat lăsând în loc duble legături	4-2 Carbonoxigenliază	EC 4.2.1.2. L-malat-hidroliază	Fumarază
5. Izomeraze	Interconversiunea izomerilor	5-3 Interconversiunea aldoozelor și cetozelelor	EC 5.3.1.1. D-glicerol-aldehid-3-fosfat-ketolizomerază	Triozofosfat izomerază
6. Ligaze	Formarea legăturilor C-O, C-N, C-S în reacții cuplate cu degradare de ATP	6-3 Formarea legăturii C-N	EC 6.3.1.2. L-glutamat-amoniilgază	Glutaminsintetază

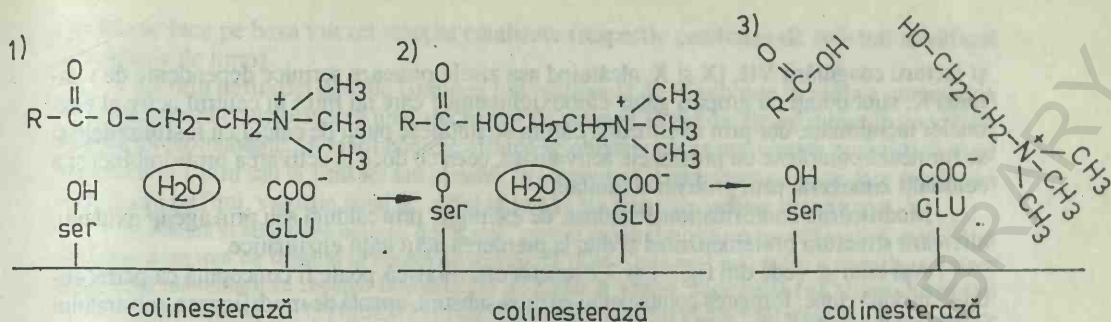


Fig.3.1. Exemplu ilustrativ privind structura centrului activ al unei enzime. În cazul colinesterazei serice (CHE) principalii constituenți ai centrului activ sunt o grupare anionică ($-\text{COO}^-$) și un radical serină. Reacția catalizată de CHE ar decurge în următoarele etape: 1) alinierea substratului acilcolină la centrul activ al enzimei; 2) desfacerea legăturii ester a acilcolinei și formarea unei legături ester trecătoare între acidul gras și radicalul serină din centrul activ al CHE; 3) adăugarea unei molecule de H_2O și desfacerea legăturii tranzitorii dintre serină și acidul gras. Rezultatul final al acestei reacții de hidroliză este scindarea acilcolinei în acid gras și colină, care reprezintă produșii de reacție și care se desprind apoi de pe suprafața enzimei.

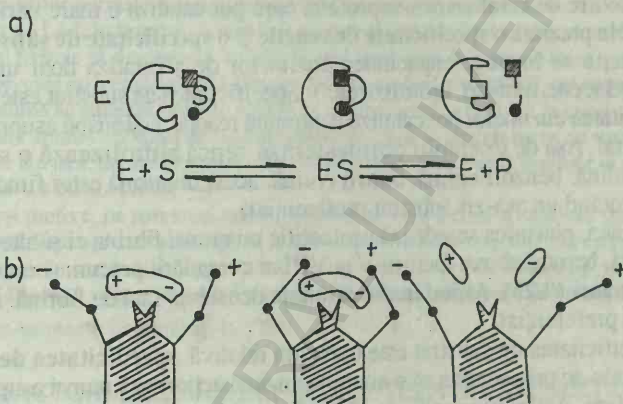


Fig.3.2. Reprezentarea schematică a formării complexelor enzimă substrat. E = enzimă; S = substrat; P = produs de reacție; a) ipoteza tiparului rigid conform căruia substratul se potrivește în centrul activ al enzimei "precum cheia în broască"; b) ipoteza modificărilor conformaționale suferite de enzimă în cursul fixării substratului.

parea bazică a colinei ($-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$) și un radical serină prevăzută cu un oxidril prin care stabilește o legătură ester tranzitorie cu acidul gras din molecula de acilcolină (vezi fig. 3.1).

Alte zone din structura protein-enzimei pot fixa micromolecule care diferă față de substrat, dar care modifică afinitatea enzimei față de substrat (crescând-o sau diminuând-o). Astfel de zone alosterice pot interveni în reglarea activității enzimelor. Asupra activatorilor și inhibitorilor alosterici se va reveni.

Natura acizilor aminați din structura unei enzime are importanță și pentru formarea unor complexe cu rol în procesul de activare al enzimei respective. Așa de exemplu protrombina

și factorii coagulării VII, IX și X, alcătuind așa zisele proteaze serinice dependente de vitamina K, sunt dotați cu grupări gama-carboxiglutamice care nu intră în centrul activ al enzimelor menționate, dar prin intermediul cărora se stabilesc punți de calciu cu fosfolipidele și se formează complexe cu proteazele activatoare, ceea ce duce la activarea protrombinei și a celorlalți zimogeni, prin proteoliză limitată.

Modificările conformaționale induse, de exemplu, prin căldură sau prin agenți oxidanți, alterează structura proteinenzimei și duc la pierderea activității enzimatice.

Așa cum se vede din fig.3.1 și 3.2 reacția enzimatică poate fi concepută ca petrecându-se în două etape: formarea complexului enzimă-substrat, urmată de modificarea substratului și desprinderea de pe enzimă a produșilor rezultați.

Zona activă a unei enzime nu mai este astăzi concepută ca un tipar strict preformat și rigid, în care substratul se potrivește precum cheia în broască. Există de fapt dovezi pentru teoria lui Koshland conform căreia zona activă a enzimei este dotată cu o oarecare plasticitate, astfel încât substratul poate induce modificări conformaționale ale enzimei care devine mai receptivă față de substrat și ajunge "să se potrivească" mai bine cu acesta (25).

3.1.2.1. SPECIFICITATEA UNEI REACȚII ENZIMATICE

Spre deosebire de catalizatorii neproteici care pot cataliza o mare varietate de reacții chimice, enzimele prezintă o **specificitate de reacție** și o **specificitate de substrat**. Prin specificitatea de reacție se înțelege capacitatea enzimelor de a cataliza doar un anumit tip de reacție (oxidoreducere, transfer, hidroliză etc.). Specificitatea de substrat este mai relativă, în sensul că majoritatea enzimelor pot cataliza o anumită reacție, acționând asupra unor substraturi înrudite structural. Așa de exemplu colinesteraza serică hidrolizează o serie de esteri ai colinei (acetilcolină, benzoil-colină, butiril colină, acest din urmă ester fiind hidrolizat mai rapid și reprezentând un așa-zis substrat preferențial).

De asemenea, plasmina scindează proteolitic nu numai fibrina ci și alte proteine, ca de exemplu caseina, hemoglobina, factorii V și VIII ai coagulării precum și unii esteri sintetici ai argininei și lizinei (9,25). Având însă o afinitate deosebită față de fibrină, aceasta va constitui substratul preferențial.

Dacă specificitatea de substrat este oarecum relativă, **specificitatea de grup** este însă strictă, înțelegându-se prin aceasta că o anumită enzimă acționează numai asupra unor grupări chimice particulare. Astfel chimotripsina hidrolizează doar legăturile peptidice în care gruparea carboxil este dată de un acid aminat aromatic (fenilalanină, tirozină), iar trombina acționează numai asupra legăturilor peptidice dintre arginină și glicocol.

Există și o **specificitate optică**, anumite enzime acționând doar asupra izomerilor D (de exemplu enzimele glicolitice) sau doar asupra izomerilor L (enzimele cu rol în metabolismul acizilor aminați). Se admite și o **specificitate de coenzimă**. Așa de exemplu oxidoreductazele acționând în procesele de biosinteză utilizează NADPH_2 ca reducător, în timp ce enzimele oxidoreductoare cu rol în procesele de degradare utilizează de preferință NAD ca acceptor de hidrogen (1,25,27).

3.1.2.2. PRINCIPII DE DETERMINARE A UNEI ACTIVITĂȚI ENZIMATICE

Dozarea enzimelor se bazează pe determinarea activității lor, adică pe capacitatea de a cataliza o anumită reacție. De fapt, în condiții optimizate, viteza unei astfel de reacții este proporțională cu cantitatea de enzimă prezentă în mediu. Ca urmare, exprimarea activității unei

enzime se face pe baza vitezei reacției catalizate (respectiv cantitatea de substrat modificat pe unitatea de timp).

Conform definiției date de Uniunea Internațională de Biochimie, o unitate enzimatică (U) catalizează transformarea unui micromol de substrat în decurs de un minut în condițiile standard recomandate. În laboratoarele clinice se obișnuiește ca activitatea enzimatică să se raporteze la 1 litru sau la 1 ml ser sau plasmă. În consecință, exprimarea se poate face sub formă de U/l sau mU/ml, valorile fiind de altfel identice din punct de vedere numeric.

Se discută și adoptarea noțiunii de "Katal" care ar reprezenta activitatea enzimatică capabilă să transforme un mol de substrat în decurs de o secundă ($Kat = \text{mol/sec}$) iar pentru a se evita utilizarea numerelor subunitare se recurge la subunități de Katal și anume mikokatal (μKat) sau nanokatal ($nKat$). Transformarea din U/l în $\mu Kat/l$ se face împărțind U/l la 60 (1 minut = 60 secunde). Așa de exemplu o activitate ASAT de 16 U/l devine 0,266 $\mu Kat/l$ sau 266 $nKat/l$. Acest mod de exprimare nu este însă unanim acceptat și în majoritatea revistelor de specialitate rezultatele sunt prezentate ca U/l.

În lipsa unor reactivi standard optimizați este însă iluzoriu să se vorbească de valori valabile pentru toate laboratoarele, întrucât mici modificări în tehnica de lucru produc mari variații ale valorilor activității enzimatică. Așa de exemplu valorile normale ale lactatdehidrogenazei (LDH) determinate la 25°C oscilează între 120-240 U/l, în timp ce la 37°C aceste valori se situează între 260-500 U/l. De asemenea, activitatea colinesterazei serie determinate cu substrat de acetilcolină se situează la normali între 160-260 $\mu\text{mol/l/oră}$ (2666-4333 U/l) în timp ce prin utilizarea ca substrat a butiriltioecolinei valorile normale oscilează între 4500 și 11000 U/l. În cazul transaminazelor (aminotransferazelor) limita superioară a valorilor normale determinată la 37°C cu reactivi optimizați se situează la 42 U/l pentru ASAT și pentru ALAT, în timp ce cu reactivii preparați în majoritatea laboratoarelor din țară aceste valori normale nu trebuie să depășească 16 U/l. Și mai mari sunt diferențele între valorile normale ale fosfatazei alcaline, care cu metoda clasică Bessey-Lowry nu depășesc 48 U/l, iar cu reactivi având tampon de trietanolamină se situează până la 300 U/l la adult și până la 600 U/l la copii.

Din motivele arătate mai sus este recomandabil ca, până la introducerea de reactivi optimizați în toate laboratoarele din țară, fiecare laborator clinic să-și stabilească valorile normale în condițiile de lucru și cu reactivii care îi sunt accesibili.

Din aceleași motive, pe parcursul acestui capitol ne vom feri de a exprima variațiile patologice sub formă de unități/litru ci doar ca multipli ai limitei superioare a normalului sau ca procente din media valorilor normale, iar în cazul când se prezintă U/l se va preciza metoda utilizată și valorile normale ale metodei. La finele acestui volum se prezintă totuși un tabel orientativ privind valorile normale ale unor enzime utilizându-se reactivi optimizați la 37°C.

3.1.2.3. FACTORI DE CARE DEPINDE VITEZA UNEI REACȚII ENZIMATICE

Principalii factori de care depinde viteza unei reacții enzimatică sunt temperatura, valoarea de pH, concentrația substratului și a coenzimelor precum și de eventuala intervenție a unor activatori sau inhibitori.

Efecte dependente de pH se datorează modificărilor stării de ionizare a moleculei de proteinenzimă și implicit asupra capacității de fixare a substratului în centrul activ al enzimei. Fiecare enzimă are un pH optim la care reacția catalizată decurge cu viteză maximă. Pentru majoritatea enzimelor acest pH este apropiat de cel fiziologic situându-se între 6,9 și 7,7. Dacă însă reacția catalizată decurge cu eliberarea de compuși acizi (de exemplu hidroliza trigliceridelor sau a acilcolinei) se recomandă tamponarea ionilor de hidrogen și deci folosirea unui tampon alcalin între pH 8 și pH 9. De menționat că activitatea fenoloxidazică a ceruloplasminei decurge în condiții optime la pH 5,5, iar cea a pepsinei la un pH mult mai acid, corespunzând sucului gastric în perioada de stimulare a secreției.

Efectul temperaturii se vedește prin accelerarea reacțiilor enzimatică odată cu creșterea temperaturii. Peste o anumită limită, denumită temperatură critică și care variază de la

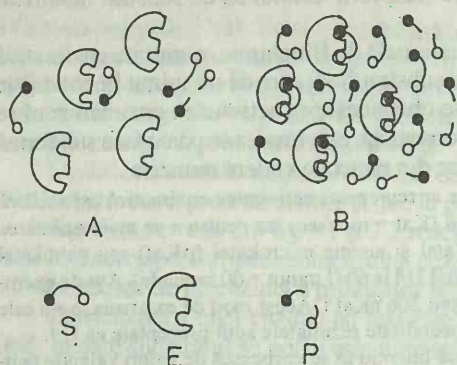


Fig. 3.3. Reprezentare schematică a unor diferite rapoarte între concentrația enzimei (E) și cea a substratului (S). A. La concentrații joase de substrat doar o parte a moleculelor de enzimă fixează substrat iar reacția enzimatică decurge neeconomic. B. La concentrații ridicate de substrat toate moleculele de enzimă sunt combinate cu substratul, reacția decurgând cu viteză maximală și rezultând cantități sporite de produși de reacție (P). După Rodwell (25) cu mici modificări.

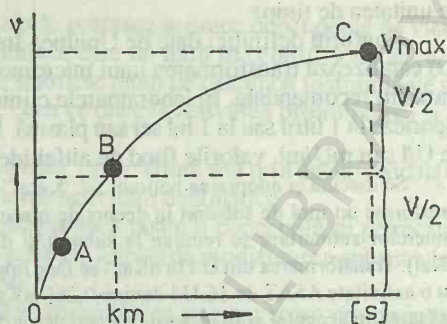


Fig. 3.4. Relația matematică dintre concentrația substratului (S) pe abscisă și viteza reacției enzimatic (v) pe ordonată. Se observă o creștere progresivă a v de la A la C, odată cu creșterea concentrației substratului, până la atingerea unei viteze maxime (V), după care o creștere în continuare a substratului nu mai accelerează viteza de reacție. Punctul B de pe curbă corespunde unei viteze egale cu jumătate din viteza maximală (V/2). Ducând o perpendiculară din punctul B pe abscisă se poate afla constanta Michaelis (Km) reprezentând concentrația de substrat la care $v = V/2$.

enzimă la enzimă, componenta proteică a sistemului enzimatic se denaturează și activitatea enzimatică încetează.

Efectul concentrației substratului este ilustrat în fig. 3.3. și fig. 3.4. Se poate vedea că șansele de formare a complexelor enzimă-substrat sunt reduse dacă concentrațiile de substrat sunt joase și că formarea complexelor amintite crește progresiv odată cu creșterea concentrației substratului respectiv. Implicit are loc o accelerare a reacției enzimatică care decurge conform ecuației Michaelis-Menten:

$$v = \frac{V [S]}{K_m + [S]}$$

în care: v = viteza de reacție; V = viteza maximă la care poate ajunge reacția; [S] = concentrația substratului; Km = constanta Michaelis (vezi fig. 3.4.)

Pentru a transforma curba hiperbolică a relației dintre v și [S] într-o dreaptă s-a convenit ca acești parametri să fie exprimați prin valorile lor reciproce, adică 1/v și 1/[S] ajungându-se astfel la ecuația:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V [S]} \text{ sau } \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \times \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V [S]}$$

care prin simplificare devine:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Avându-se în vedere că doar v și $[S]$ sunt variabile, în timp ce K_m și V sunt constante pentru o anumită pereche enzimă-substrat, ecuația de mai sus este de tipul $Y = ax + b$ care dă o reprezentare grafică lineară, așa-zisa reprezentare dublu reciprocă imaginată de Lineweaver și Burk (vezi fig.3.5).

Pe baza acestei relații și efectuându-se doar 4-5 determinări ale activității enzimaticе, la concentrații diferite de substrat, se poate calcula constanta Michaelis (K_m), adică acea concentrație de substrat la care viteza reacției enzimaticе decurge cu jumătate din viteza maximă ($V/2$). Pentru prepararea reactivilor utilizați la determinarea activităților enzimaticе se recomandă o concentrație de substrat de cel puțin zece ori mai ridicată decât K_m . De notat că o valoare crescută a K_m indică o afinitate redusă a enzimei față de substrat sau prezența unui inhibitor competitiv (vezi fig.3.7).

Rolul coenzimelor devine evident în cazul unor enzime care își exercită efectul lor catalitic doar în prezența unor anumite molecule organice neproteice (termostabile și dializabile). Aceste molecule denumite coenzime sunt necesare pentru activitatea oxidoreductazelor, transferazelor, izomerazelor și ligazelor (clasele 1,2,5,6) în timp ce hidrolazele și liazele (clasele 3 și 4) nu necesită coenzime.

Coenzimele având, de cele mai multe ori, în compoziția lor vitamine din grupul B pot fi împărțite în două mari grupe:

1. Coenzime implicate în procesele de oxidoreducere (transfer de H^+), grupă în care se includ nicotinadeninucleotidul (NAD) și o formă fosforilată a acestuia (NADP) conținând în structura lor vitamina PP, flavinmononucleotidul (FMN) și flavinadeninucleotidul (FAD), ambele conținând în structuralor riboflavină (vit. B_2). Tot în această grupă se includ acidul lipoic (acid 6-8 ditiocetanoic) care prin grupările SH poate deveni donator sau acceptor de protoni, precum și coenzima Q, o chinonă care intervine în procesele de fosforilare oxidativă.

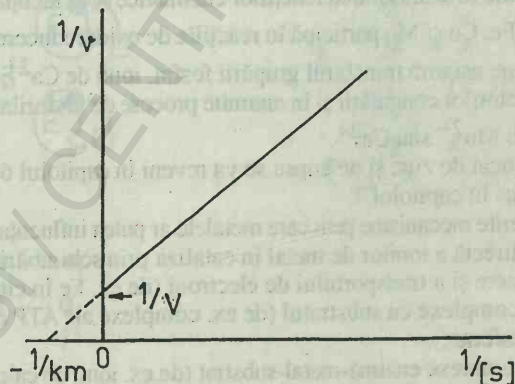
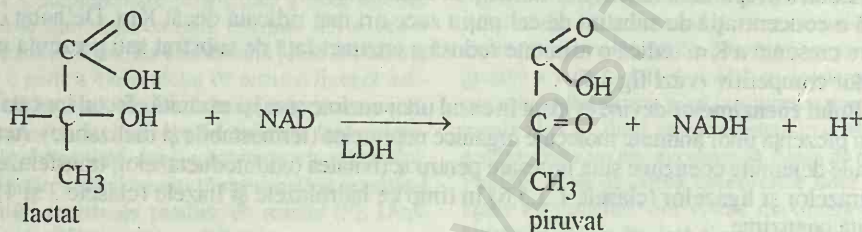


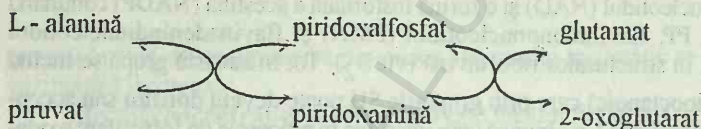
Fig.3.5. Reprezentarea dublu reciprocă (Lineweaver-Burk) a relației dintre $1/[S]$ (pe abscisă) și $1/v$ (pe ordonată). Punctul în care dreapta întreține ordonata indică $1/V$, iar locul de întretăiere al abscisei reprezintă valoarea $-1/K_m$.

2. Coenzime implicate în transferul altor grupe decât H^+ , această grupă incluzând coenzime cu rol în transferul de grupe fosfat (de ex. ATP), vitamina B1 cu rol în reacția de decarboxilare a acidului piruvic și vitamina B₆ (piridoxalfosfat) cu rol în reacțiile de transfer a grupărilor amino (aminotransferaze). Tot în această grupă se includ coenzima A conținând în structura ei acidul pantotenic și intervenind în transferul de radicali acetil, precum și acidul folic și vitamina B₁₂ cu rol în transferul de grupe cu un atom de carbon cum ar fi grupul formil ($-CHO$), formiat ($HCOOH$) sau hidroximetil ($-CH_2OH$).

Pentru înțelegerea mecanismului de acțiune al coenzimelor este important de reamintit că aceste substanțe pot fi considerate ca un al doilea substrat, respectiv cosubstrat, suferind modificări concomitente cu substratul. Așa de exemplu, în reacțiile de oxidoreducere o moleculă de substrat se oxidează (se dehidogenează), în timp ce o moleculă de coenzimă se reduce (se hidogenează).



Pe de altă parte, în reacțiile de aminotransferare, piridoxalfosfatul (vit. B₆) acționează ca un transportor intermediar de grupe amino între doi aminoacizi:



Rolul unor metale în desfășurarea reacțiilor enzimatiche se evidențiază pe mai multe planuri. Așa de exemplu Fe, Cu și Mo participă în reacțiile de oxidoreducere, ionii de Mg^{2+} sunt necesari în reacțiile care asigură transferul grupării fosfat, ionii de Ca^{2+} sunt necesari în procesele de activare a factorilor coagulării și în anumite procese de fosforilare, iar o serie de peptidaze sunt activate de Mn^{2+} sau Ca^{2+} .

Asupra rolului jucat de zinc și de cupru se va reveni în capitolul 6 iar rolul calciului și magneziului este expus în capitolul 7.

S-au sugerat diferite mecanisme prin care metalele ar putea influența reacțiile enzimatiche.

a. Participarea directă a ionilor de metal în cataliza prin schimbări de valență în cursul reacției de oxidoreducere și a transportului de electroni (de ex. Fe în citocromi).

b. Formarea de complexe cu substratul (de ex. complexe ale ATP cu ionii de magneziu în reacția de fosfotransferare).

c. Formarea de complexe enzimă-metal-substrat (de ex. ionii de calciu) asigură formarea unui complex între fosfolipide, factorul Xa (enzima activatoare) și protrombina (zimogenul activabil), care în cazul de față joacă rol de substrat.

d. Inducerea unor modificări conformaționale care duc la activarea enzimei sau îi mențin o structură activă (de ex. ionii de Zn în alcooldehidrogenaza hepatică).

Se pare deci că efectele carenței de oligoelemente, asupra cărora se insistă în literatură de specialitate din ultimii ani, se exercită tocmai prin anomalii în modularea reacțiilor enzimatice (vezi capitolele 6 și 7).

Metalele pot exercita însă și efecte negative asupra enzimelor. Așa de exemplu, grupările SH din centrul activ al transglutaminazei (factorul XIII al coagulării) pot fi blocate de către metale grele, cum ar fi Hg, ducând la inactivarea consecutivă a enzimei.

Efectul inhibitorilor de enzime constituie o problemă de o deosebită importanță pentru reglarea funcțiilor organismului și pentru înțelegerea mecanismului de acțiune al unor medicamente.

Din punct de vedere al mecanismului de acțiune toți inhibitorii (fiziologici și nefiziologici) pot fi împărțiți în două mari grupe: inhibitori competitivi și inhibitori necompetitivi.

O altă modalitate de clasificare a inhibitorilor de enzime se bazează pe locul de acțiune, distingându-se inhibitori care acționează asupra centrului activ al enzimei și inhibitori alosterici, care afectează reacția enzimatică acționând într-o altă zonă a moleculei de enzimă.

Inhibitorii competitivi sunt substanțe cu structură chimică asemănătoare substratului (analogi chimici ai substratului) și concurează cu acesta pentru ocuparea centrului activ al enzimei (zona catalitică). Ca urmare a competiției între substrat și inhibitorul competitiv se formează complexe enzimă-inhibitor competitiv (EI) în dauna formării de complexe enzimă-substrat (ES), ceea ce duce la scăderea activității enzimatice. Crescându-se însă mult concentrația substratului (S) și menținându-se constant nivelul inhibitorului (I) se amplifică șansele formării complexelor ES, iar efectul inhibitorului scade (vezi fig.3.6).

Așa cum se poate vedea din fig. 3.7, prezența unui inhibitor competitiv se exprimă din punct de vedere cantitativ prin creșterea valorii K_m , ceea ce înseamnă că pentru atingerea jumătății din viteza maximală ($V/2$) a reacției enzimatice este nevoie de mai mult substrat decât în lipsa inhibitorului competitiv.

Există numeroase exemple de inhibitori competitivi. Astfel, sulfamidele sunt analogi chimici ai acidului p-aminobenzoic (vezi fig.3.8) și inhibă sistemele enzimatice ale microbilor care

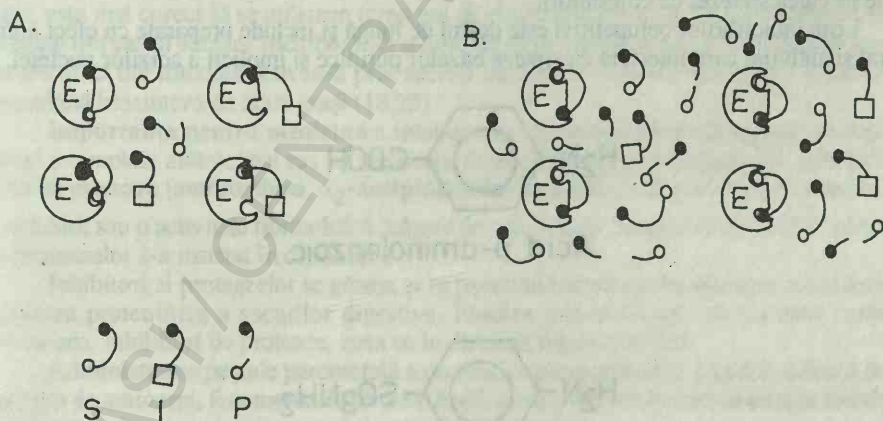
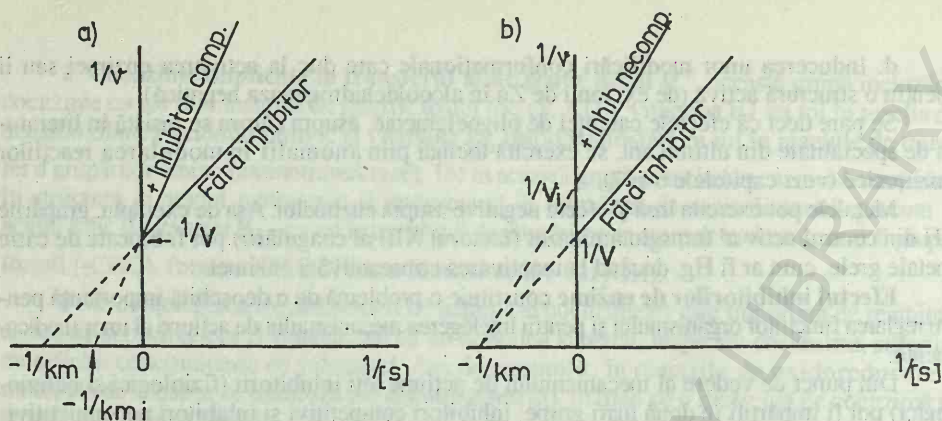


Fig. 3.6. Competiția dintre substrat (S) și inhibitorul competitiv (I) pentru centrul activ al enzimei (E). A. În cazul unei concentrații reduse de substrat, șansele inhibitorului (cu structură oarecum similară substratului) de a ocupa centrul activ al enzimei sunt mult facilitate.

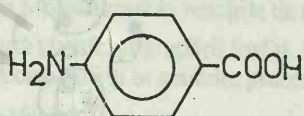
B. Șansele inhibitorului competitiv se reduce mult prin creșterea concentrației substratului astfel încât reacția enzimatică nu mai este frânată rezultând cantități importante de produși de reacție (P).



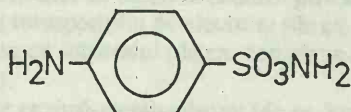
utilizează p-aminobenzoat pentru formarea de acid folic. De asemenea, anticoagulantele orale de tip cumarinic au o structură analogă vitaminei K și astfel inhibă sistemele enzimatice dependente de vitamina K (carboxilaza) și implicit reduc formarea de grupări gama-carboxiglutamice din factorii II, VII, IX și X ai coagulării. De notat că în lipsa grupărilor gama-carboxiglutamice fixatoare de calciu, factorii coagulării mai sus amintiți nu sunt activabili.

Așa cum s-a arătat în capitolul 1, scăderea sintezei de colesterol în urma tratamentului cu inhibitori ai HMG-CoA reductazei se explică prin aceea că astfel de inhibitori (Lovastatin, Simvastatin) au o structură similară cu HMG-CoA, substratul HMG-CoA reductazei (enzima cheie pe calea sintezei de colesterol).

Lista inhibitorilor competitivi este destul de lungă și include preparate cu efect antitumoral și antiviral care interferează cu sinteza bazelor purinice și implicit a acizilor nucleici.



Acid p-aminolenzoic



Sulfamidă

Fig. 3.8. Analogia între structura chimică a acidului paraaminobenzoic și cea a unei sulfamide.

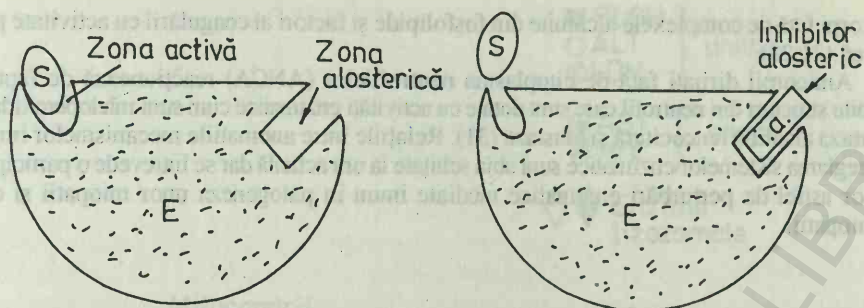


Fig. 3.9. Reprezentare schematică a inhibiției alosterice. Pătrunderea inhibitorului alosteric (i-a) în zona alosterică produce modificări conformaționale ale enzimei reducându-i afinitatea față de substratul S.

Inhibitorii necompetitivi nu au o structură similară substratului, iar efectul lor nu diminuează prin creșterea concentrației substratului. Ca urmare, valoarea K_m nu este influențată, în timp ce viteza maximală (V_{max}) este mult diminuată (vezi fig.3.7). Se cunosc inhibitori necompetitivi reversibili care se pot desprinde de pe enzimă și inhibitori necompetitivi ireversibili care constituie adevărate "otrăvuri ale enzimelor". Între aceștia din urmă se numără iodoacetamida, săruri ale metalelor grele (Ag^{2+} , Hg^{2+}) și o serie de agenți oxidanți. De notat că aspirina este un inhibitor necompetitiv ireversibil al ciclooxigenazei din plăcuțele sanguine.

Inhibitorii alosterici afectează reacțiile enzimatice fixându-se într-o altă zonă a enzimei, diferită de centrul activ. Ca urmare a fixării inhibitorului în așa-zisa zonă alosterică (alos alt; stereos-spățiu) se produc modificări conformaționale ale enzimei care îi reduc afinitatea față de substrat (vezi fig.3.9) și implicit încetinesc reacția enzimatică.

Întrucât diverși modificatori ai reacțiilor enzimatice acționând pe zona alosterică pot duce nu doar la inhibarea enzimei dar și la activarea acesteia, crescându-i afinitatea față de substrat, este mai corect să se utilizeze termenul de **efectori alosterici**. Așa de exemplu citratul, rezultat din ciclul acizilor tricarboxilici inhibă alosteric fosfofructokinaza, limitând procesul de glicoliză dar totodată activează prin același mecanism alosteric acetil-CoA carboxilaza stimulând biosinteza de acizi grași (18,25).

Importanța pentru medicină a inhibitorilor de enzime prezintă aspecte multiple. Pe lângă exemplele arătate mai sus cu implicații farmacologice, este de subliniat rolul inhibitorilor de proteaze (antitrombina, α_2 -antiplasmina) care previn o activare intravasculară a coagulării sau o activitate fibrinolitice scăpate de sub control. Asupra inhibitorilor plasmatici ai proteazelor s-a insistat în capitolul 2.

Inhibitori ai proteazelor se găsesc și în parazitul intestinal *Ascaris* care astfel rezistă la acțiunea proteolitică a sucurilor digestive. Fasolea soia și albușul de ou crud conțin, de asemenea, inhibitori de proteaze, ceea ce le diminuează digestibilitatea.

Administrarea pe cale parenterală a enzimelor provenite de la o specie diferită duce la apariția de anticorpi, fenomen care limitează utilizarea L-asparaginazei în terapia leucemiilor sau a streptokinazei ca activator al sistemului fibrinolitic.

S-a descris și posibilitatea formării de **autoanticorpi față de unele enzime**. De exemplu modificări suferite de factorul XIII la pacienți tratați cu izoniazidă pot duce la apariția de anticorpi față de această transglutaminază, iar în cursul lupusului eritematos diseminat pot apare

anticorpi față de complexe alcătuite din fosfolipide și factori ai coagulării cu activitate proteazică (21,28).

Anticorpii dirijați față de citoplasma neutrofilelor (ANCA) reacționează de fapt cu anumite structuri din neutrofil care sunt dotate cu activități enzimatică cum sunt mieloperoxidaza, fosfataza alcalină leucocitară și elastaza (31). Relațiile între anomaliiile mecanismelor imune și dereglarea sistemelor enzimatică sunt abia schițate la ora actuală dar se întrevide o participare a unor astfel de perturbări enzimatică mediate imun în patogeniza unor miopatii și cardiomiopatii.

3.2. ACTIVITATEA ENZIMATICĂ ÎN CELULELE VII

Activitatea enzimatică din celule prezintă o serie de particularități care diferă de activitatea enzimatică "in vitro". Astfel, starea de echilibru a unei reacții enzimatică urmărită "in vitro" și reprezentată prin formula $E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P$ nu se poate aplica "in vivo", întrucât produsul de reacție P este mereu îndepărtat din jurul enzimei care poate astfel capta noi molecule de substrat (S). De multe ori produsul unei reacții enzimatică (P) devine substrat într-o altă reacție enzimatică și așa mai departe, datorită unei anumite orientări spațiale a enzimelor care asigură un proces metabolic cu mai multe secvențe. Pentru ilustrare este suficient de reamintit secvențele enzimatică ale sintezei de uree, etapele enzimatică ale glicolizei continuate cu ciclul acizilor tricarboxilici, complexe multienzimatică care intervin în sinteza și degradarea acizilor grași și etapele enzimatică ale sintezei de colesterol.

Este de asemenea important de precizat că reacțiile enzimatică din celulele VII pot fi modulate prin intervenția unor mecanisme de reglare dependente de hormoni sau sub acțiunea unor metaboliți celulari specifici, cu efecte locale (prostaglandinele, AMP-ciclic, derivați de fosfatidilinositol). Creșterea sau limitarea unei activități enzimatică intracelulare se poate realiza fie prin modificarea eficienței fiecărei molecule de enzimă, fie prin modificarea vitezei de sinteză sau de degradare a moleculelor de enzimă cu implicații asupra numărului de enzime eficiente.

Pe baza acestor considerente este necesară o scurtă trecere în revistă a datelor din literatură privind distribuția intracelulară a enzimelor și a achizițiilor recente privind mecanismele de reglare a activităților enzimatică în organism.

3.2.1. DISTRIBUȚIA INTRACELULARĂ A ENZIMELOR

Cunoașterea localizării enzimelor la nivelul diferitelor organite celulare este necesară nu numai pentru o mai bună înțelegere a modului în care sunt dirijate procesele metabolice dar și pentru interpretarea unor rezultate furnizate de laboratorul clinic. De fapt, creșterea în ser a unor enzime provenite din mitocondrii sugerează că leziunea celulară este mai severă decât în cazul în care creșterea se limitează la enzime citoplasmatică ieșite din celulă datorită creșterii permeabilității membranei celulare. S-a putut demonstra că enzimele care intervin în glicoliză sunt localizate în citoplasmă, pe când enzimele cu rol în ciclul acizilor tricarboxilici, enzimele lanțului respirator și cele implicate în fosforilarea oxidativă se află la nivelul mitocondriilor. Tot în mitocondrii se găsește și glutamatdehidrogenaza (GLDH).

Pentru practica medicală este important de precizat că alaninaminotransferaza (ALAT) se găsește doar în citoplasmă (enzimă uniloculară) pe când aspartat-aminotransferaza (ASAT) și malatdehidrogenaza (MDH) se află atât în citoplasmă cât și în mitocondrii. Tehnici

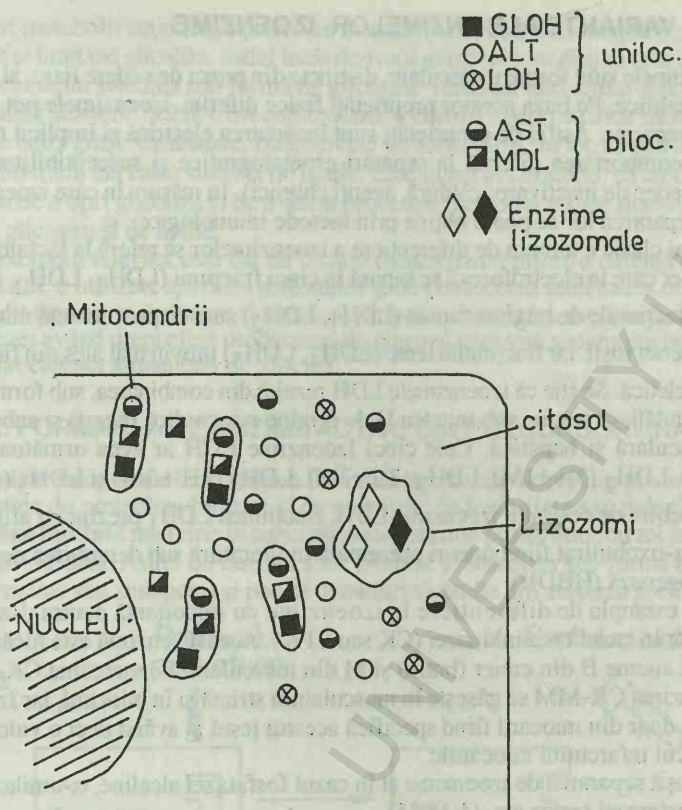


Fig. 3.10. Reprezentarea schematică a localizărilor intracelulare ale enzimelor.

imunochimice au putut chiar diferenția între ASAT citoplasmatic (c-ASAT) și enzima mitocondrială (mASAT) creșterea în ser a acestora din urmă indicând o leziune mai severă a celulelor (2).

La nivelul lizozomilor se găsesc enzime cu rol în degradarea lipidelor, proteinelor și acizilor nucleici (colesterilesterhidrolază acidă, dezoxiribonuclează, fosfatază acidă, proteaze, collagenaze, beta-glicuronidază etc) (vezi fig.3.10).

Pentru interpretarea modificărilor survenite în privința activității serice a enzimelor, este important de precizat că echipamentul enzimatic al celulelor diferă de la organ la organ. Așa de exemplu ASAT se află mai ales în miocard și ficat precum și în cantități cu ceva mai reduse în fibra musculară striată, în timp ce ALAT se găsește mai ales în ficat. Creatinkinaza (CK) provine din musculatura scheletică și din miocard, iar LDH poate proveni din ficat, miocard și musculatura scheletică. În aceeași ordine de idei trebuie arătat că amilaza serică poate avea ca sursă atât pancreasul cât și glandele salivare, iar fosfataza alcalină crește în ser atât în unele boli osoase cât și în afecțiuni hepatice. Proveniența unei activități enzimatică în ser poate fi însă precizată prin analizarea componenței izoenzimelor (1,18,24-27).

3.2.2. VARIANTE ALE ENZIMELOR. IZOENZIME

Izoenzimele sunt forme moleculare, distincte din punct de vedere fizic, al unei aceleiași activități catalitice. Pe baza acestor proprietăți fizice diferite, izoenzimele pot fi diferențiate și eventual separate. Astfel de proprietăți sunt încărcarea electrică și implicit migrarea electroforetică, comportarea diferită la separări cromatografice și susceptibilitatea diferită la diverse procedee de inactivare (căldură, agenți chimici). În măsura în care izoenzimele diferă antigenic, separarea lor se poate obține prin metode imunologice.

Cel mai clasic exemplu de diferențiere a izoenzimelor se referă la lactatdehidrogenaza (LDH) din ser care la electroforeză se separă în cinci fracțiuni (LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ și LDH₅). Fracțiunile de migrare rapidă (LDH₁, LDH₂) sunt de proveniență miocardică și din elementele seriei roșii, iar fracțiunile lente (LDH₄, LDH₅) provin mai ales din ficat și din musculatura scheletică. Se știe că izoenzimele LDH rezultă din combinarea, sub formă de tetramer, a două subunități, și anume subunitatea H de origine miocardică (heart) și subunitatea M de origine musculară și hepatică. Cele cinci izoenzime LDH ar avea următoarea alcătuire: LDH₁ (4H), LDH₂ (3H + 1M), LDH₃ (2H + 2M), LDH₄ (1H + 3M) și LDH₅ (4M). De notat că spre deosebire de celelalte izoenzime LDH, fracțiunea LDH₁ prezintă o afinitate particulară pentru α -oxobutirat fiind uneori prezentată în literatură sub denumirea de α -hidroxibutirat dehidrogenază (HBDH).

Un alt exemplu de diferențiere în izoenzime cu importanță pentru diagnosticul de laborator este în cazul creatinkinazei (CK sau CPK). Această enzimă este alcătuită din două subunități și anume B din creier (brain) și M din musculatură. Izoenzima CK-BB se află în creier, izoenzima CK-MM se găsește în musculatura striată și în miocard, iar izoenzima CK-MB provine doar din miocard fiind specifică acestui țesut și având deci o valoare deosebită în diagnosticul infarctului miocardic.

S-a reușit separarea de izoenzime și în cazul fosfatazei alcaline, α -amilazei, fosfatazei acide, colinesterazei serice etc. (1,18,25).

3.2.3. REGLAREA ACTIVITĂȚILOR ENZIMATICE

Se cunoaște până în prezent trei mecanisme principale prin care activitatea enzimelor din organism poate fi modulată în funcție de necesități: un prim mecanism este cel alosteric menționat anterior, un al doilea mecanism general constă din posibilitatea trecerii din formă inactivă de zimogen în enzimă activă; cel de al treilea mecanism depinde de capacitatea celulelor de a regla numărul de molecule dotate cu proprietăți enzimatice, fie prin modificarea vitezei de sinteză a enzimelor, fie prin modificări ale gradului de inactivare sau degradare a acestora. La aceste mecanisme cu caracter general se mai poate adăuga posibilitatea de reglare a concentrației inhibitorilor proteazelor plasmatică implicate în coagulare și fibrinoliză, precum și de inhibare a elastazei provenite din leucocite (vezi cap.2).

3.2.3.1. EFECTORII ALOSTERICI

Acești reglatori sunt, de regulă, produși de metabolism care sunt în măsură să modifice afinitatea enzimelor față de substratele lor (vezi fig.3.9). De multe ori efectorii alosterici intervin pe mai multe căi metabolice, fie inhibând, fie activând sistemele enzimatice. Așa de exemplu, în cazul unei utilizări sporite a hidraților de carbon pe calea glicolizei se formează un exces de citrat. Acest metabolit acționează printr-un mecanism de feed-back negativ, inhibând fos-

de citrat. Acest metabolit acționează printr-un mecanism de feed-back negativ, inhibând fosfofructokinaza și limitând glicoliza, astfel încât derivații glucozei sunt dirijați spre alte căi metabolice, ca de exemplu stocarea sub formă de glicogen. Totodată însă, citratul activează, prin același mecanism alosteric, acetil CoA carboxilaza, o enzimă cheie pe calea sintezei extramitochondriale de acizi grași. Ca urmare, fragmentele de acetil-CoA, în loc să pătrundă în ciclul acizilor tricarboxilici, iau calea sintezei de lipide. Efectul net al citratului, ca efector alosteric, este deci acela de a opri glicoliza și de a devia procesele metabolice spre stocarea de energie sub formă de glicogen și de lipide.

Un alt exemplu relevant este dat de o stare caracterizată printr-o carență de hidrați de carbon, urmată de o utilizare sporită a grăsimilor și de producerea unui exces de acetil-CoA. Acest metabolit devine un activator alosteric al piruvatcarboxilazei, o enzimă cheie pe calea gluconeogenezei având drept efect producerea de glucoză necesară sistemului nervos și compensând parțial carența alimentară de glucide.

3.2.3.2. FORMAREA DE ENZIME ACTIVE DIN PRECURSORI INACTIVI

Principalele mecanisme care asigură formarea de enzime active din precursori inactivi sunt reprezentate de proteoliza limitată și de procesele de fosforilare sau defosforilare.

Proteoliza limitată intervine în cazul anumitor enzime proteolitice cu rol în digestie sau implicate în hemostază. Astfel de enzime sunt produse și secretate sub formă de precursori inactivi (proenzime sau zimogeni) și poartă denumiri alcătuite din atașarea prefixelor pre sau

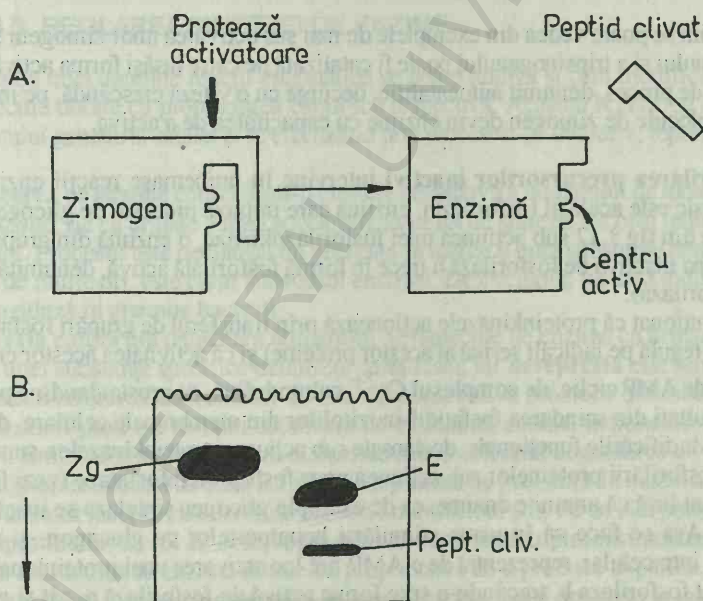


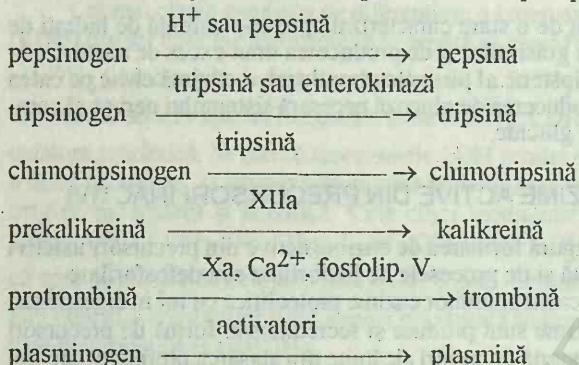
Fig. 3.11. Activarea zimogenilor prin proteoliză limitată.

A. Sub acțiunea unei proteaze activatoare are loc clivarea unui peptid din molecula de zimogen, "demascându-se" astfel centrul activ al enzimei și respectiv transformarea zimogenului în enzimă.

B. Electroforeza în gel de poliacrilamidă conținând dodecilsulfat de sodiu, permite separarea moleculelor proteice și peptidice în funcție de greutatea lor moleculară. Se poate astfel demonstra desprinderea peptidului de clivare (pept.cliv) și reducerea greutății moleculare a enzimei (E) față de cea a zimogenului (Zg) din care provine.

pro, sau respectiv a sufixului ogen, la numele enzimei. Conversia zimogenilor în enzime active este catalizată de enzime proteolitice care prin clivarea unui fragment peptidic duc la "demascarea" centrului activ al enzimei. Este evident că prin îndepărtarea peptidelor clivate greutatea moleculară (GM) a enzimei este mai redusă decât a zimogenului precursor (Fig.3.11). Așa de exemplu pepsinogenul are o GM de 42000 în timp ce pepsina are abia 35400, iar plasminogenul cu GM de 92000 trece sub acțiunea activatorilor săi în plasmină cu o greutate moleculară de 83000.

Redăm mai jos câteva exemple de activare prin proteoliză limitată:



Așa cum se poate vedea din exemplele de mai sus activarea unor zimogeni și în special a pepsinogenului și a tripsinogenului poate fi catalizată de către însăși forma activă a enzimei, iar un astfel de proces, denumit autocatalitic, decurge cu o viteză crescândă, pe măsură ce tot mai mult molecule de zimogen devin enzime cu capacitatea de a activa.

Fosforilarea precursorilor inactivi intervine în numeroase reacții enzimatice. Un exemplu clasic este acela al fosforilazei, enzima care inițiază procesul de glicogenoliză. Așa cum se vede din fig.3.12 sub acțiunea unei fosforilazokinaze, o enzimă din grupa proteinkinazelor, forma inactivă de fosforilază b trece în formă fosforilată activă, denumită fosforilaza a (fosfofosforilaza).

De menționat că proteinkinazele acționează prin transferul de grupări fosfat pe diverse proteine (de regulă pe radicali serină ai acestor proteine) și că activitatea acestor enzime poate fi modulată de AMP ciclic, de complexul Ca^{2+} -calmodulină, de prostaglandine precum și de produșii rezultați din scindarea fosfatidil-inozitolilor din membranele celulare, de către fosfolipaza C. Modificările funcționale, declanșate sub acțiunea proteinkinazelor sunt tranzitorii, datorită defosforilării proteinelor sub acțiunea unor fosfoproteinfosfataze (vezi fig.3.12).

De notat însă că anumite enzime, ca de exemplu glicogen sintetaza se inactivează prin fosforilare. Așa se face că în urma stimulării hepatocitelor cu glucagon, și a eliberării messengerului intracelular, reprezentat de c-AMP, are loc activarea unei proteinkinaze care fosforilează atât fosforilaza b, trecându-o spre forma activă de fosforilază a, cât și glicogensintetaza care devine inactivă. Rezultanta finală a acestor procese este o creștere marcată a eliberării de glucoză din depozitele de glicogen (25).

Se știe astăzi că între stimulul hormonal și procesele enzimatice mai sus amintite se interpun receptori celulari pentru hormoni precum și așa-zisele proteine G (17). Descrierea detaliată a transmiterii stimulilor la efectori ar depăși însă scopul prezentului capitol.

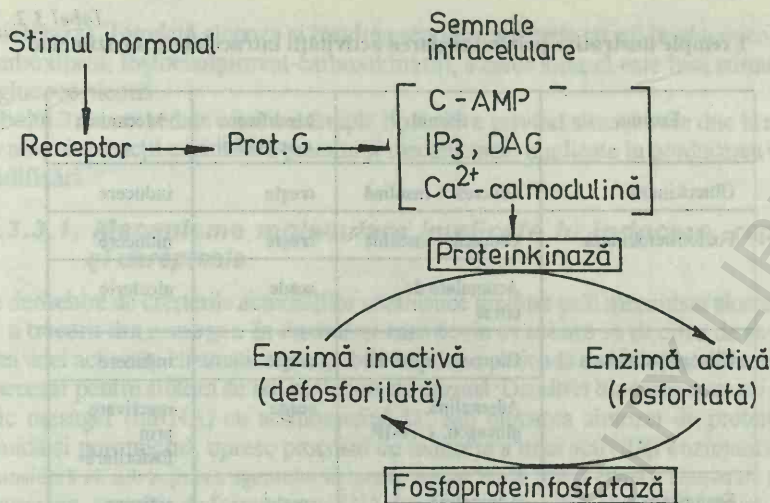


Fig.3.12. Activarea enzimelor prin fosforilarea precursorilor inactivi.

3.2.3.3. REGLAREA SINTEZEI DE ENZIME

Reglarea unei anumite reacții enzimatică se poate realiza și prin modificarea numărului de molecule dotate cu proprietatea catalitică respectivă. Această reglare se află sub controlul aparatului genetic al celulei și se efectuează prin procesele de inducere, represie și derepresie.

Inducerea de enzime constă dintr-o creștere adaptativă a numărului de molecule ale unei anumite enzime, fie ca urmare a unei accelerări a vitezei de sinteză, fie prin reducerea vitezei de degradare. Procesul este declanșat de prezența în mediu a unei substanțe denumită inductor și care, de multe ori, este chiar substratul enzimei. De exemplu, lactoza induce sinteza de betagalactozidază în anumite bacterii.

Represia constă din reducerea numărului de molecule de enzimă ca urmare a prezenței în mediu a unei substanțe specifice denumită corepresor, iar **derepresia** este termenul folosit pentru a indica creșterea moleculelor de enzimă consecutivă scoaterii din mediu a corepresorului. Adeseori producția reacției catalizate de o anumită enzimă acționează în calitate de corepresori, limitând sinteza respectivei enzime sau accelerând degradarea ei. De exemplu, sinteza de triptofansintetază de către *E. Coli* este reprimată de prezența în mediu a triptofanului, adică a produsului reacției catalizate de enzima amintită mai sus. Pe de altă parte, absența din mediu a triptofanului cu rol de corepresor duce la derepresia triptofansintetazei și respectiv la creșterea numărului de enzime dotate cu proprietatea de a produce triptofan.

Deși inducerea, represia și derepresia de enzime au fost inițial descrise la microorganisme, aceste mecanisme intervin și la animalele superioare, având un rol esențial în reglarea metabolismelor. S-a putut demonstra că un anumit inductor poate stimula sinteza mai multor enzime înrudite, respectiv implicate în același lanț metabolic și că nu numai diversele substraturi specifice dar și o serie de hormoni pot îndeplini funcția de inductori. Așa de exemplu glucoza și insulina induc sinteza enzimelor implicate în utilizarea glucozei (glucokinaza, fosfofructokinaza, piruvatkinaza, glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza) sau în formarea de glicogen

Tabel 3.2.

Exemple ilustrative privind reglarea activității intracelulare a enzimelor

Enzima	Stimul	Modificare a activității	Mecanism
Glucokinază	Glucoză + insulină	crește	inducere
Fosfofructokinaza	Glucoză + insulină	crește	inducere
	Acumulare de citrat	scade	alosterie
Glicogen sintetaza	Glucoză + insulină	crește	inducere
	Adrenalină, glucagon, c-AMP	scade	inactivare prin fosforilare
Fosforilaza	Adrenalină, glucagon, c-AMP	crește	activare prin fosforilare
Piruvatcarboxilaza	Glucocorticoizi	crește	inducere
	Insulina	scade	represie
	Acetil-CoA	crește	alosterie
Fosfoenolpiruvat carboxikinaza	Glucocorticoizi	crește	inducere
	Insulină	scade	represie
Acetil-CoA carboxilaza	Insulină	crește	inducere
	Citrat	crește	alosterie
HMG-CoA reductaza	Acumulare de colesterol în celulă	scade	represie
	Depleția de colesterol a celulei	crește	derepresie
Diverse aminotransferaze	Glucocorticoizi	crește	inducere
	Insulină	scade	represie
Protrombina	Factor Xa, fosfolipide, calciu, factor V	crește (trece în trombină)	proteoliză limitată
Plasminogen	Activator tisular	crește (trece în plasmină)	proteoliză limitată

(glicogensintetaza). Totodată glucoza și insulina reprimă enzimele cu rol în gluconeogeneză (piruvat carboxilaza, fosfoenolpiruvat-carboxikinaza), a căror sinteză este însă stimulată de hormonii glucocorticoizi.

În tabelul 3.2 sunt redată câteva exemple ilustrative privind situații care duc la modificarea unor anumite reacții enzimatică precum și mecanismele implicate în producerea respectivelor modificări.

3.2.3.3.1. Mecanisme moleculare implicate în inducere, represie și derepresie

Spre deosebire de creșterile activităților enzimatică produse prin mecanism alosteric, sau ca urmare a trecerii din zimogen în enzimă și care devin evidente în decurs de secunde, modificarea unei activități enzimatică inductibile implică o perioadă de latență care corespunde timpului necesar pentru sinteza de noi molecule de enzimă. De altfel blocarea sintezei de acid ribonucleic mesager (mRNA) cu actinomycină D., sau blocarea sintezei de proteine prin cicloheximidă și puromicină, opresc procesul de inducere a unei activități enzimatică.

Se consideră că sub acțiunea agentului inductor, are loc într-o primă etapă o accelerare a procesului de transcriere, respectiv de formare a mRNA după tiparul de DNA al genei de structură care codifică respectiva enzimă (vezi fig.3.13).

Acumularea de mRNA la nivelul ribosomilor duce ulterior la stimularea sintezei de proteinezimă prin procesul de translație după modelul oferit de mRNA. Ca în orice sinteză de proteine, sinteza enzimei la nivelul ribosomal implică o inițiere a procesului, urmată de elongare progresivă și de terminare la nivelul adecvat a lanțului peptidic. Există dovezi că procesul de inducere poate fi influențat la nivel posttranscripțional fie în sensul unei stabilizări a mRNA, fie în sensul unei degradări sau inactivări a acestuia.

Mecanismele care pot interveni în modificările posttranscripționale ale mRNA implică clivări, metilări, poliadnilări și fixări ale mRNA pe anumite proteine. În cazul proceselor de inducere mediate de hormoni, de exemplu cortizol, inițial este necesară o fixare a hormonului pe receptori specifici ai celulei țintă, urmată de internalizarea complexului receptor-hormon, care acționează la diverse nivele stimulând transcrierea, influențând fenomenele posttranscripționale și în anumite situații inactivând represorul. Complexitatea acestor mecanisme care implică mai multe etape, fiecare etapă supusă unui control specific, ar putea explica spectrul larg de acțiune al glucocorticoizilor care include atât efecte anabolice cât și catabolice în funcție de țesutul țintă. Așa de exemplu cortizolul stimulează sinteza de proteine în ficat, dar exercită un efect catabolic asupra țesutului limfoid, deși induce sinteza de aminotransferaze în ambele țesuturi (13,25).

3.2.3.3.2. Implicații medicale ale inducerii de enzime microsomiale

Pe lângă efectele mai sus menționate privind rolul proceselor de inducere și derepresie în controlul metabolismelor, există suficiente dovezi că inducerea de enzime joacă un rol important în metabolizarea medicamentelor și în răspunsul organismului la diverse medicamente. Pe de altă parte, o serie de medicamente acționează ca inductori, iar efectele lor de sporire a activității anumitor sisteme enzimatică se repercută nu numai asupra metabolizării respectivelor medicamente ci și asupra altor metabolisme.

Lista agenților inductori este lungă și în continuă proliferare. Ea include medicamente anticonvulsivante (fenobarbital, fenitoină), antifungice (griseofulvină), antibiotice (rifampicina), antiinflamatorii (aminopirina, fenilbutazonă), anticoagulante (warfarina), agenți de adicție (alcool și marijuana), contraceptive orale (progesteron), pesticide (DDT), hidrocarburi policiclice (din fumul de țigară, din carnea de grătar).

Ficatul este principalul organ în care au loc procesele de inducere sub acțiunea agenților mai sus amintiți, dar astfel de mecanisme de inducere enzimatică au putut fi demonstrate în placentă, în intestin și în limfocite.

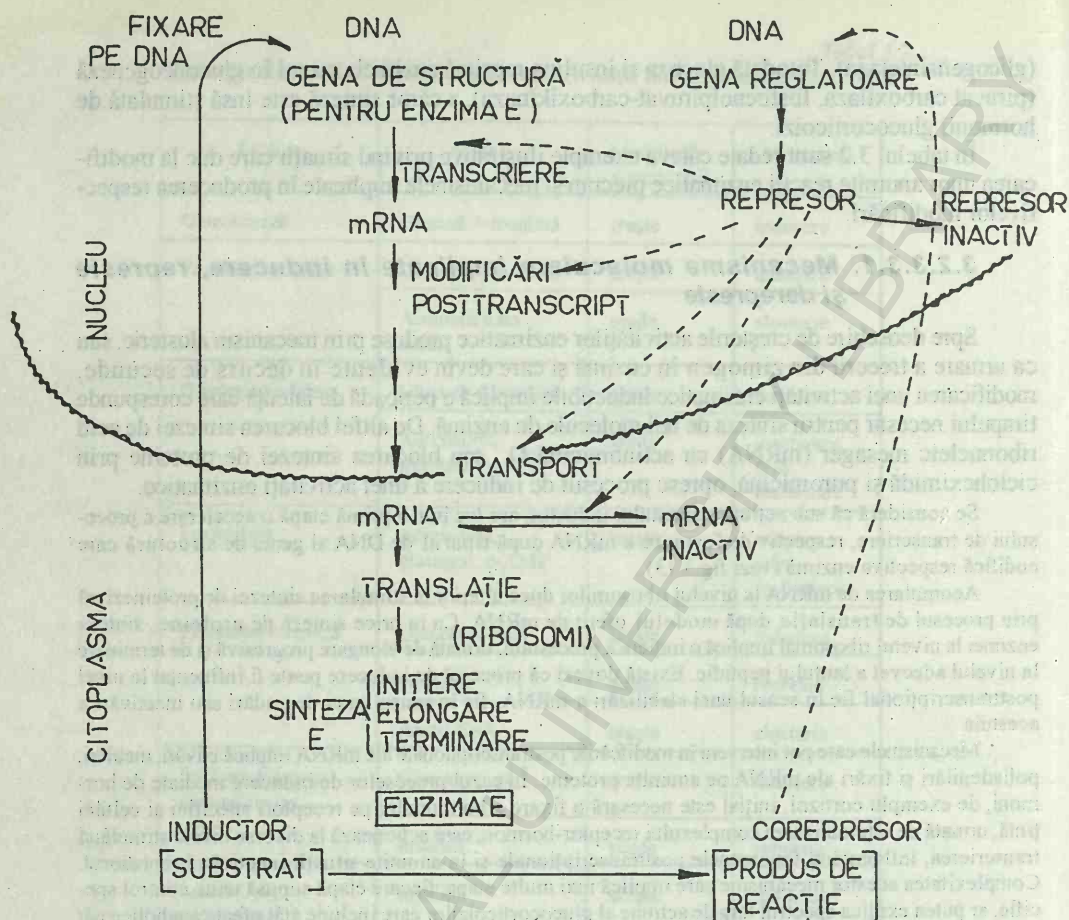


Fig. 3.13. Reprezentare schematică a inducerii și represiei unei enzime E. Substratul enzimei acționează ca inductor, se fixează pe acidul dezoxiribonucleic (DNA) din nucleu și inițiază formarea de acid ribonucleic mesager (mRNA) specific pentru enzima E; la nivelul ribosomilor are loc translația și inițierea sintezei de enzimă. Pe de altă parte, produșii reacției catalizate de enzima E, determină la nivelul genei reglatoare sinteza de represor care limitează producerea enzimei E la diverse nivele (transcriere, posttranscriere, la transportul prin membrana nucleară și eventual accelerând inactivarea mRNA. De notat că substratul poate interveni și prin inactivarea represorului producând fenomenul de derepresie. Linia plină indică calea procesului de inducere, iar linia întreruptă se referă la căile prin care se reprimă sinteza enzimei.

Literatura medicală insistă asupra sistemului microsomal de hidroxilare a medicamentelor cunoscut și sub denumirea de sistem al oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte. Reacțiile catalizate de aceste enzime includ hidroxilări ale unor structuri alifatică sau aromatică, demetilări, dehalogenări precum și glicuronoconjugări. Efectele esențiale ale acestor reacții constau în transformarea unor substanțe străine organismului (xenobiotice) din formă liposolubilă în forme hidrosolubile mai ușor de eliminat pe cale renală sau biliară. Ca urmare, sistemele enzimatică mai sus amintite necesită prezența de O_2 din care un atom este utilizat pentru hidroxilarea xenobiotului iar celălalt pentru generarea de H_2O împreună cu hidro-

genul cedat de NADPH_2 sau NADH_2 . Totodată, la asigurarea fluxului de electroni necesari pentru reducerea atomului de oxigen contribuie citocromoxidoreductaza (EC 1.6.99.3) și un grup de citocromi, dintre care mai bine caracterizați sunt citocromii P450 și P448 (denumiți astfel după lungimea de unde de 450 nm și respectiv 448 nm la care prezintă un maxim de absorbție).

Există o serie de implicații cu importanță pentru medicină a inducerii oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte.

1. În primul rând sporirea accentuată a capacității de hidroxilare, are drept urmare o metabolizare și implicit o eliminare mai rapidă atât a medicamentului care a indus sistemul enzimatic cât și a altor xenobiotice. Astfel subiecții tratați cronic cu fenobarbital metabolizează mai rapid anticoagulantele cumarinice, tolbutamida, aminopirina, fenilbutazona, clorpromazina, fenitoina și digitoxina.

2. Inducerea prin fenobarbital a bilirubinglicuroniltransferazei accelerează procesul de glicuronconjugare a bilirubinei și are efecte favorabile asupra hiperbilirubinemiilor indirecte (neonatale, boala Gilbert, sindrom Criggles-Najjar tip II). Totodată inducerea enzimelor care intervin în hidroxilarea acizilor biliari duce la creșterea solubilității în apă a acestora și implicit la creșterea fluxului biliar apos, cu repercusiuni favorabile asupra fenomenelor de colestatică intrahepatică (vezi cap.4).

3. Pe de altă parte, inducerea cauzată de fenobarbital poate avea efecte nedorite cum sunt metabolizarea accelerată a vitaminei D și a metaboliților biologici activi ai acesteia, ceea ce favorizează dezvoltarea rahitismului și osteomalaciei sau accentuarea osteoporozei. Inducerea oxidoreductazelor accelerează și hidroxilarea hormonilor steroizi (androgeni, estrogeni, progestativi precum și a glucorticoizilor) dar importanța acestor procese pentru eventuale disfuncții hormonale nu a fost încă dovedită.

4. Agravarea porfiriilor în urma consumului de barbiturice s-ar putea explica prin inducerea de către fenobarbital a citocromului P450 cu structură hemică. Se ajunge astfel la o dirijare sporită a moleculelor de hem spre formarea de citocrom P450 și la o scădere a rezervelor intracelulare de hem care acționează totodată, în calitate de corepresor al deltaaminolevulinic sintetazei, la frânarea porfirogenezei. Cu alte cuvinte, inducerea prin fenobarbital a citocromului P450 duce la o derepresie a sintezei de porfirine și la fenomenele neurologice date de agravarea porfiriilor acute.

5. S-a arătat că o serie de hidrocarburi policiclice își sporesc efectul cancerigen prin hidroxilare, în timp ce hidrocarburile aromatice devin mai puțin carcinogene în urma hidroxilării. S-ar părea deci că inducerea sistemului microsomal hidroxilant poate fie accelera, fie încetini creșterea tumorală în funcție de carcinogenul implicat.

6. Consumul cronic de alcool are un efect inductor asupra oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte ceea ce duce nu numai la creșterea propriei sale metabolizări dar și la accelerarea metabolizării tolbutamidei, antivitaminelor K., barbituricelor și fenitoini, ceea ce ar putea explica toleranța crescută a alcoolicii față de sedative. O singură doză mare de alcool inhibă însă metabolizarea substanțelor amintite, ceea ce explică efectele toxice cumulative ale ingestiei unor doze masive de alcool împreună cu barbiturice. Consumul cronic de alcool duce la creșterea γ -glutamil-transferazei în ser iar sevrul duce la scăderea activității serice a acestei enzime.

7. Adaptarea nou-născuților la viața extrauterină depinde în mare măsură de maturarea funcțiilor biochimice și fiziologice în cursul dezvoltării fetale și există dovezi că hormonii cum sunt glucocorticoizii și tiroxina contribuie la maturarea funcțiilor biochimice prin inducerea sintezei de enzime. Chiar și producerea de surfactant la nivelul alveolelor pulmonare și

respectiv maturarea plămânilor implică inducerea enzimei colin fosfotransferază sub acțiunea glucocorticoizilor.

8. Capacitatea aiasistemelor enzimatică de a răspunde la agenți inductori scade la vârstnici, ceea ce ar putea explica reducerea posibilităților de adaptare a metabolismelor la solicitări sporite.

9. Se ridică și problema unei posibile intervenții a unor mecanisme de inducere enzimatică în cazul subiecților obezi și hipertrigliceridenici. De fapt, injectarea intraperitoneală repetată de fenobarbital la iepuri duce la creșterea trigliceridelor serice și hepatice, iar acest procedeu ca și alimentația bogată în fructoză induce sinteza de fosfatidatfosfohidrolază, o enzimă cu rol în producerea trigliceridelor. Pe de altă parte, subiecții obezi și hipertrigliceridenici prezintă o accelerare a procesului de clearance al antipirinei ceea ce sugerează o amplificare a reticulului endoplasmatic și o activitate sporită a enzimelor microsomale cu rol în metabolizarea medicamentelor.

10. Evidențierea unui proces de inducere a enzimelor microsomale cu mijloacele laboratorului clinic se bazează pe detectarea creșterilor urinare de 6- β -hidroxicortisol și de acid D-glucaric, pe creșterea activității γ -glutamyltransferazei (o enzimă inductibilă) și pe accelerarea eliminării din organism a antipirinei administrate (13,14).

3.3. BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE DIAGNOSTICULUI ENZIMATIC

Așa cum s-a arătat mai sus, majoritatea reacțiilor enzimatică ca și reglarea acestor procese au loc la nivelul celulelor, iar laboratorul clinic încearcă să contribuie la diagnostic și la stabilirea prognosticului pe baza determinărilor de enzime în umori și mai ales în serul bolnavilor. Din acest motiv, este important de stabilit prin ce mecanisme se ajunge la modificarea activităților enzimatică în ser, respectiv în plasmă.

3.3.1. PROVENIENȚA ENZIMELOR PLASMATICE

Din punct de vedere al mecanismului prin care enzimele ajung în plasmă, se pot distinge următoarele categorii:

a. **Enzime secretate activ în plasmă.** Astfel de enzime sunt secretate mai ales de ficat și acționează de regulă asupra unor substraturi din plasmă îndeplinind la acest nivel un rol fiziologic. În această grupă se includ o serie de factori ai coagulării (protrombina, factorii VII, IX, X, XIII) lecitin-colesterol aciltransferaza (LCAT) cu rol în esterificarea colesterolului din plasmă și colinesteraza. Insuficiența funcțională a celulelor care produc astfel de enzime se asociază cu scăderea activității plasmatice a enzimelor respective.

b. **Enzime ale secrețiilor exocrine.** Cea mai mare parte a unor astfel de enzime cum sunt amilaza pancreatică și salivară, lipaza pancreatică, pepsinogenul gastric și fosfataza acidă prostatică se varsă în canalele excretore și doar o mică fracțiune scapă în limfă și de acolo în plasmă. Așa de exemplu, în condiții fiziologice, 98% din α -amilaza produsă în acinii glandulari ai pancreasului ajunge în duoden. Ca urmare, activitatea acestei enzime este de 500-800 ori mai mare în duoden decât în ser. În caz de leziuni ale celulelor secretoare sau de obstrucții acute ale canalelor excretore, partiția exo-endocrină amintită se alterează și un procent mai mare de enzime trece în limfă și de acolo în plasmă.

În principiu, atrofia organului producător de enzime ar trebui să ducă la o scădere a activității serice a enzimelor din această categorie, dar insuficiența funcțională a celulelor producătoare poate fi mai bine evaluată în produsul de secreție (respectiv în suc duodenal în cazul α -amilazei pancreatice).

c. Enzime celulare. Astfel de enzime acționează exclusiv intracelular, iar creșterea lor în ser denotă o alterare a membranei celulare, permițându-se astfel "scurgerea" lor în lichidul interstițial, limfă și plasmă.

Principalele enzime celulare (enzime plasmatice de leziune) utilizate în scop de diagnostic sunt lactatdehidrogenaza (LDH), alaninaminotransferaza (ALAT) aspartataminotransferaza (ASAT), creatinkinaza (CK, notată și CPK) și glutamatdehidrogenaza (GLDH).

Natura enzimei celulare, a cărei activitate crește în ser, precum și gradul unei astfel de creșteri depind de:

1. Echipamentul enzimatic al organului lezat. Această noțiune nu trebuie însă absolutizată. Astfel, rinichiul este organul cel mai bogat în γ GT, dar în majoritatea cazurilor leziunile renale nu duc la creșteri ale acestei enzime în ser deoarece enzima scursă din tubii renali trece în urină. În schimb ficatul, cu un conținut mai redus de γ GT este principala sursă a creșterilor de enzimă în ser.

2. Localizarea intracelulară a enzimelor și permeabilitatea membranelor celulare și mitocondriale (vezi fig.3.10).

3. Gradul de vascularizație a organului lezat și viteza de circulație la nivelul zonelor lezate, de care depinde "spălarea" enzimelor ieșite din celule în lichidul interstițial și trecerea lor în plasmă.

4. Prezența sau absența unei bariere inflamatorii.

5. Solubilitatea enzimei în lichidul extracelular și măsura în care celulele lezate vin în contact direct cu plasma. Astfel, datorită contactului intim al hepatocitelor cu sângele circulant, leziunile hepatice permit o deversare rapidă a enzimelor celulare în plasmă. În cazul altor organe, trecerea din celule în sânge decurge mai lent prin intermediul lichidului interstițial și al limfei.

6. Viteza de degradare și de eliminare a enzimei celulare ajunsă în plasmă.

7. Numărul de celule lezate și gradul de afectare al fiecărei celule precum și viteza cu care s-au produs leziunile.

Pe lângă cele trei categorii de mecanisme care duc la modificări ale activității enzimelor serice, sunt de menționat enzimele indicatoare ale colestazei și cele care reflectă un proces de inducere. Asupra unor astfel de enzime cum sunt fosfataza alcalină (ALP) și γ -glutamiltransferaza (γ -GT) se va reveni în capitolul 5).

3.3.2. ELIMINAREA DIN PLASMĂ A ENZIMELOR

Se recunosc mai multe mecanisme prin care se ajunge la scăderea activității enzimelor ajunse în plasmă.

În cazul enzimelor cu greutate moleculară relativ mică, ca de exemplu α -amilaza, îndepărtarea se face pe cale urinară. Există, de asemenea, indicii că cel puțin o parte a fosfatazei alcaline hepatice se elimină prin bilă.

Scăderea activității creatinkinazei se datorează într-o primă etapă unui proces de oxidare a grupărilor SH din centrul activ al enzimei, procesul fiind însă parțial reversibil printr-o "reactivare" ce poate fi obținută prin adaosul de compuși conținând grupări SH.

Cea mai mare parte a enzimelor celulare sunt însă îndepărtate din plasmă printr-un proces de captare și degradare în macrofage. Viteza cu care se produce această îndepărtare vari-

ază de la enzima la enzima și prezintă o deosebită importanță diagnostică, întrucât recoltările de sânge efectuate la un timp prea lung de la evenimentul patologic, pot da rezultate negative. Astfel timpul de înjumătățire ($T/2$) în plasmă este de circa 24-36 ore în cazul ASAT și de 40-68 ore pentru ALAT. De menționat că izoenzimele LDH_1 și LDH_2 (tipul miocardic) persistă în plasmă un timp suficient de lung ($T/2 = 60-180$ ore) spre a avea o valoare diagnostică, pe când izoenzima LDH_5 (tipul muscular și hepatic) se elimină extrem de rapid ($T/2 = 8-12$ ore) și din acest motiv are valoarea diagnostică doar în caz de leziuni supraacute și deosebit de extinse ale ficatului și ale musculaturii.

Enzimele de secreție hepatică (colinesteraza, LCAT și factorii coagulării cu activitate enzimatică) sunt și ele degradate în organism, iar timpul lor de înjumătățire variază între 10-14 zile, în cazul colinesterazei și 6-8 ore în cazul factorului VII al coagulării (1,9,24).

3.3.3. ACTIVITĂȚI ENZIMATICE ÎN URINĂ

Activitățile enzimatice detectabile în urină pot proveni, în principiu, din următoarele surse:

- 1) filtrare glomerulară a enzimelor din plasmă;
- 2) remanierea permanentă a celulelor renale, ureterale și vezicale;
- 3) creșterea tranzitorie a permeabilității membranei celulelor tubulare renale (de exemplu în cursul unei hipoxii severe);
- 4) secreții genitale (de exemplu fosfataza acidă din lichidul prostatic);
- 5) celule sanguine (hematii, leucocite);
- 6) bacterii.

Cu excepția amilazei pancreatice și salivare și a pepsinogenului gastric (uropepsinogen), filtrarea glomerulară a enzimelor din plasmă este limitată de greutatea moleculară ridicată. Ca urmare, valori crescute ale ASAT, ALAT, CK, LDH, γ GT și GLDH în urină pledează pentru leziuni ale celulelor tubulare renale. De fapt creșteri importante ale LDH_1 , LDH_2 și ale γ GT se detectează în boli renale acute și mai ales în caz de rejet al unui transplant renal. Dozările de enzime urinare se practică însă rareori, astfel de determinări nefiind suficient de bine standardizate, respectiv fiind dependente de gradul de diluție al urinei, de variații ale pH urinar și de eventuala prezență a unor peptide urinare cu efect inhibitor (10).

3.4 VALOAREA DIAGNOSTICĂ A DETERMINĂRILOR DE ENZIME

În tabelul 3.3 se prezintă o sinteză privind semiologia principalelor enzime utilizate în scop diagnostic. Detalii privind interpretarea rezultatelor obținute în contextul datelor clinice sunt prezentate în cele ce urmează.

3.4.1. ENZIMELE SERICE ÎN INFARCTUL MIOCARDIC

Principalele enzime cu valoare diagnostică, în cazul unei ischemii acute a miocardului care poate ajunge până la necroză, sunt CK (CPK) ASAT și LDH. În interpretarea creșterilor în ser a activității acestor enzime trebuie ținut cont de anumite particularități ale procesului patologic și anume: debutul leziunii survine acut; intervalul de timp în care se instalează leziunile este relativ scurt; zona afectată este relativ limitată și localizată; leziunile suferite de fiecare celulă sunt de regulă severe.

Tabel 3.3.

**Semiologia principalelor enzime în diagnosticul de laborator:
În paranteză se dau prescurtările utilizate în mod uzual.**

Enzima	Proveniență	Modificări patologice	Observații
Aspartat aminotransferază (AST, ASAT)	ficat, miocard, mușchi, mici cantități în plămâni, rinichi, pancreas, eritrocite	Creșteri marcate: infarct miocardic, hepatită acută, leziuni toxice ale ficatului Creșteri moderate: hepatite cronice, mononucleoză infecțioasă, colici biliare	În ficat: 60% în citosol; 40% în mitocondrii
Alanin-aminotransferază (ALT, ALAT)	citosolul hepatocitelor, mici cantități în rinichi, pancreas, miocard, mușchi	Creșteri marcate: hepatită acută și leziuni toxice ale ficatului Creșteri moderate: hepatite cronice, mononucleoză infecțioasă, colici biliare	Localizată mai ales în hepatocitele de la periferia lobului hepatic
Lactat dehidrogenază (LDH)	musculatură, ficat, miocard, rinichi, eritrocite	Creșteri marcate: infarct miocardic, leziuni toxice ale ficatului, anemie megaloblastică Creșteri moderate: boli musculare, hemoliză, limfoame maligne, sindrom mieloproliferativ	Se disting 5 izoenzime: LDH ₁ , LDH ₂ cresc în infarct miocardic și anemie megaloblastică LDH ₁ , LDH ₅ cresc în boli musculare și leziuni acute ale ficatului
Creatinkinaza (CK, CPK)	musculatură, miocard, creier	Creșteri importante: infarct miocardic, distrofie musculară progresivă, dermatomiozite, rhabdmioliză Creșteri moderate: injecții intramusculare cu diazepam, tetraciline; hipotiroidism	S-au evidențiat 3 izoenzime: dimerice CKMM - musculară CKMB - specifică miocardului CKBB - din creier

Glutamat dehidrogenază	ficat, mici cantități în rinichi, plămâni, miocard	Creșteri în leziuni severe (necrotizante) ale hepatocitelor	Enzimă mitocondrială (uniloculară)
α -amilaza	glande salivare, pancreas	Creșteri importante: pancreatita acută Creșteri moderate: parotidită, ulcer perforat, insuficiență renală, opiacee, colici biliare, macroamilazemie	S-au evidențiat izoenzime pancreatice și salivare. Amilaza se elimină prin urină
Fosfataza alcalină (AIP)	ficat, oase, duoden, rinichi	Creșteri: colestază, boli osoase asociate cu reacție osteoblastică Scăderi: hipofosfatazie genetică, mixedem, acondroplazie	Se disting izoenzime osoase, hepatice, intestinale
Fosfataza acidă (AcP)	prostată, eritrocite, plăcuțe, rinichi, ficat	Creșteri: carcinom de prostată cu depășirea capsulei; uneori în carcinoame mamare cu metastaze osoase	Enzima este instabilă. Izoenzima prostatică este tartrat inhibabilă
γ -glutamil-transferaza (γ GT, GGT)	rinichi, pancreas, ficat	Creșteri importante: colestază, alcoolism, tumori hepatice Creșteri moderate: hepatite cronice, pancreatite, trat. cronic cu barbiturice	Enzimă inductibilă
Colinesteraza (CHE)	secretată activ de către hepatocite	Scăderi importante: ciroză hepatică, intoxicații cu organofosforice Scăderi moderate: denutriție, hipotiroidism, anemii severe, reacție de fază acută Creșteri: sindrom nefrotic, obezitate androidă.	S-au descris mutații care afectează activitatea CHE și mai ales deficit de hidroliză a succinilcolinei

Tabel 3-4.

Comportarea în dinamică a activităților CK, AST și LDH în infarctul miocardic.
Modificat după Schmidt și Schmidt (27).

Enzimă serică	Interval de timp de la debut			Creștere maximă (multiplii ai limitei superioare a normalului)	Observații
	până la detectarea unor creșteri cu valoare diagnostică	până la atingerea valorilor maxime	până la normalizarea valorilor		
CK (CPK)	4-8 ore	16-36 ore	3-6 zile	7 (2-25)	Izoenzima CKMB este mai specifică pentru miocard
AST (ASAT)	6-10 ore	18-48 ore	3-6 zile	6 (2-14)	AST (dar nu și CK) poate crește în infarctul pulmonar
LDH	8-14 ore	24-60 ore	7-15 zile	3,3 (2-8)	Izoenzimele LDH ₁ și LDH ₂ sunt mai specifice pentru miocard

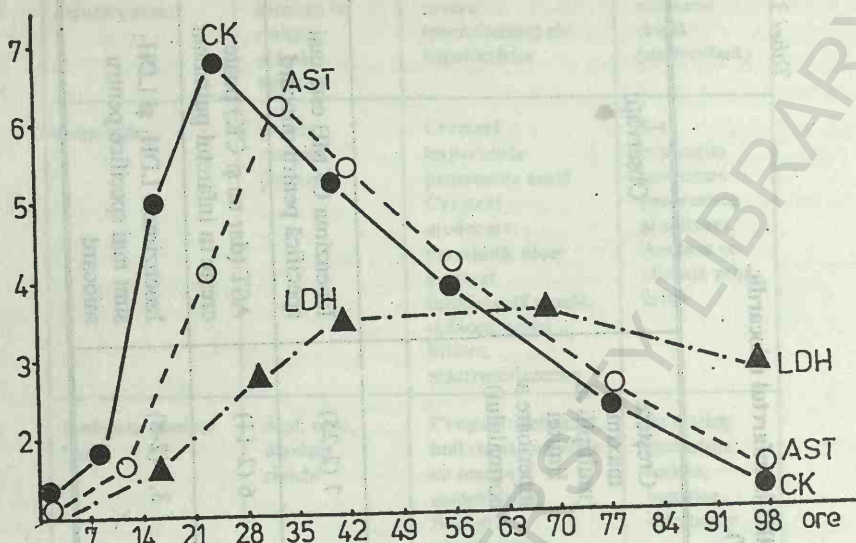


Fig. 3.14. Dinamica creșterii activităților CK, AST și LDH în cursul infarctului miocardic. Pe abscisă - timpul în ore. Pe ordonată - activitatea enzimelor în ser exprimată sub forma de multipli ai limitei superioare a normalului.

Intervalul de timp de la debutul manifestărilor clinice și electrocardiografice pe de-o parte și creșterea semnificativă a activității serice a enzimelor menționate, depinde de decalajul între producerea obstrucției și modificările suferite de celulele ischemiate, ieșirea enzimelor din aceste celule și trecerea lor din lichidul interstițial în circulația sanguină. Ca urmare, așa cum reiese din fig. 3.14 și tabelul 3.4, creșterile activităților serice ale CK, ASAT și LDH prezintă o anumită dinamică, CK fiind prima enzimă care crește, iar LDH ultima dar cea mai persistentă. Alături de această dinamică diferită, diversele enzime utilizate în diagnosticul infarctului miocardic diferă și în privința specificității, respectiv prin posibilitatea de a prezenta creșteri și în alte stări patologice.

3.4.1.1. VALOAREA DIAGNOSTICĂ ȘI LIMITELE DETERMINĂRII DE CK (CPK)

Avându-se în vedere că musculatura striată este deosebit de bogată în CK, leziunile acestui țesut duc la creșteri ale CK care, în anumite situații, pot preta la confuzii cu modificările cauzate de un infarct miocardic. Așa de exemplu creșteri ale activității serice a CK se pot întâlni în: a) efort fizic excesiv efectuat de persoane neantrenate; b) aplicarea șocurilor electrice în cursul tratamentelor de conversie a unei aritmii, survenită uneori ca o complicație a infarctului miocardic, poate duce, prin contracturi ale musculaturii striate, la creșteri mult mai mari ale CK, decât cele explicabile prin leziunea miocardică; c) hipoxia severă a musculaturii, survenită în stări de șoc (șoc cardiogen în cursul unui infarct miocardic sau șoc hemoragic) poate duce la creșteri accentuate ale CK; d) traumatisme ale musculaturii și chiar anumite injecții intramusculare (tetraciline, peniciline, diazepam și unele antiaritmice) se pot însoți de creșteri moderate ale CK; e) leziunile toxice ale musculaturii (miopatia alcoolică), miopatiile

degenerative, hipertermia malignă și dermatomiozitele se asociază de regulă cu valori mult crescute ale CK; f) hipotiroidismul sever se însoțește adeseori de valori crescute ale CK, care revin la normal după tratamentul hormonal substitutiv.

Astfel de confuzii pot fi însă evitate dacă modificările activității serice ale CK sunt interpretate în lumina datelor clinice și mai ales dacă se recurge la determinarea izoenzimei specifice miocardului (CKMB). Așa cum s-a mai arătat (vezi tabel 3.3), se disting trei izoenzime ale CK și anume: CKMM (tipul muscular), CKBB aflată în creier (fără importanță diagnostică) și CKMB de proveniență miocardică. De precizat că miocardul conține atât izoenzima CKMM (aproape 80%) cât și izoenzima CKMB (cu ceva peste 20%) și care este oarecum specifică miocardului. De fapt, o creștere a activității CK la peste dublul limitei superioare a normalului și o valoare a CKMB de peste 5% din activitatea totală a CK sunt sugestive pentru infarctul miocardic.

3.4.1.2. UTILITATEA DETERMINĂRILOR DE ASAT

Deși activitatea serică a acestei enzime crește în mai mică măsură decât CK, explorarea comportării ASAT nu și-a pierdut utilitatea. De fapt, spre deosebire de CK, ASAT crește mai puțin în afecțiunile musculaturii. Se consideră astfel utilă stabilirea raportului CK/ASAT care, în cazul unui infarct miocardic este în medie de 5 (de exemplu CK = 500 U/l; ASAT = 100 U/l) pe când într-o leziune a musculaturii striate acest raport depășește valoarea de 10, fiind în medie de 27. Trebuie însă avut în vedere că ASAT poate crește în infarctul pulmonar, precum și în boli hepatice. În astfel de situații nu se ajunge însă la creșteri de CK.

3.4.1.3. ROLUL DETERMINĂRILOR DE LDH

Creșterile LDH survin mai târziu decât în cazul CK și ASAT dar persistă mai mult timp (vezi fig.3.14). Din acest motiv determinările de LDH (în special izoenzimele LDH₁ și LDH₂) își găsesc utilitate în cazurile care, din diverse motive, ajung să fie investigate doar după câteva zile de la instalarea leziunilor miocardice. De notat importante creșteri ale LDH₁ și LDH₂ survenite la bolnavii cu anemie megaloblastică.

3.4.1.4. ROLUL DETERMINĂRILOR DE ENZIME ÎN DIAGNOSTICUL COMPLICAȚIILOR INFARCTULUI MIOCARDIC

Determinările de enzime pot furniza și relații cu privire la o eventuală insuficiență acută a inimii drepte survenită ca o complicație a infarctului miocardic sau în caz de embolie pulmonară. De fapt, congestia hepatică, instalată rapid într-o astfel de situație, duce la creșterea în ser a unor enzime care indică o leziune hepatică (ALAT, LDH₄₋₅) și care pot fi greșit interpretate ca fiind cauzate de o hepatită acută virală. Totodată, staza hepatică ca și modificările proteosintezei hepatice, consecutive reacției de fază acută explică și scăderea moderată a activității colinesterazei serice, constatată adeseori în zilele și chiar săptămânile care urmează unui infarct miocardic sever (1.27).

De asemenea, în cazul instalării șocului cardiogen și implicit a unei hipoxii generalizate, care interesează și musculatura striată, se ajunge la o creștere exprimată a CK (izoenzima CKMM) și a LDH₄₋₅.

3.4.1.5. EVALUAREA CRITICĂ A COMPORTĂRII ENZIMELOR SERICE ÎN INFARCTUL MIOCARDIC ȘI ÎN ALTE BOLI ALE MIOCARDULUI

De regulă, modificările ECG preced creșterea enzimelor de leziune, astfel încât determinările de CK (CPK), ASAT și LDH vin doar să confirme diagnosticul și eventual să evalueze extinderea leziunii. Există însă și situații în care semnele clinice și electrocardiografice nu sunt suficient de concludente. Astfel de condiții pot surveni în cazul microinfarctelor diseminate, în caz de preexistență a unei hipertrofii miocardice, în caz de persistență pe ECG a unor sechele ale unui infarct anterior, în bloc de ramură sau sindrom Wolf-Parkinson-White. De subliniat că o reinfarctare poate fi ușor decelată de CPK, ASAT și LDH, pe când recunoașterea unui astfel de proces prin examinări ECG întâmpină dificultăți. O situație particulară constă din așa-zisul infarct silențios, adică survenit în absența fenomenelor dureroase. În vederea depistării unor astfel de cazuri se recomandă investigațiile ECG și dozări de enzime ori de câte ori se constată instalarea bruscă a unei insuficiențe cardiace, episoade de dispnee acută, aritmii sau edem pulmonar.

O problemă mult dezbătută este aceea a posibilității de a evalua extinderea leziunii miocardice și implicit prognosticul unui infarct miocardic pe baza determinărilor de enzime. De fapt, prin determinări seriate de CKMB se pot face aprecieri asupra extinderii leziunii și implicit asupra riscului instalării unei insuficiențe de pompă. Nu trebuie însă uitat că gravitatea și prognosticul unui infarct miocardic depind nu numai de extinderea leziunii dar și de localizarea ei. De fapt, infarcte cu extinderea relativ redusă dar afectând sistemul excitomotor se pot solda cu deces încă din primele ore de la debut, când nivelul activității enzimelor din ser nu a ajuns încă la valori semnificativ crescute.

Pe de altă parte, terapia trombolitică care asigură o repermeabilizare a coronarei trombozate și o reperfuzie a miocardului, se însoțește de o creștere deosebit de exprimată a enzimelor menționate, datorită "spălării" acestora din zona de leziune și a trecerii lor în cantitate sporită și în ritm accelerat în torrentul circulator. În astfel de situații creșterea deosebit de accentuată a CK și ASAT contrastează cu evoluția, de regulă, favorabilă (32).

În așa-zisa "angină instabilă" cauzată de procese trombotice parietale, care nu produc o ocluzie completă a unei ramuri a arterelor coronare, creșterile de CK și ASAT sunt puțin exprimate. Determinările acestor enzime trebuie însă efectuate seriat spre a se putea surprinde o eventuală trecere spre un infarct miocardic.

Miocarditele duc la creșteri ale CK, ASAT și LDH doar atunci când au o evoluție deosebit de acută și evoluează cu procese necrotice diseminate. De notat că apariția bruscă a unei insuficiențe cardiace, în contextul unei miocardite, se poate solda cu eliberarea de ALAT și LDH₄₋₅ din ficatul brusc congestionat. Este de precizat că hepatocitele din centrul lobului hepatic, adică cele aflate în jurul venei centrolobulare, sunt deosebit de bogate în LDH și totodată sunt cele mai afectate de o congestie hepatică rapid instalată.

Insuficiența cardiacă dezvoltată lent și progresiv nu se însoțește de modificări apreciable ale ASAT, ALAT și LDH. S-a constatat însă o scădere progresivă a activității colinesterazei serice (CHE), denotând o reducere a capacității proteosintetice a ficatului ca urmare a stazei și hipoxiei, iar enzimele indicatoare ale colestazei (fosfataza alcalină și γ -glutamiltansferaza) prezintă o tendință la creștere.

Intervențiile chirurgicale pe cord se însoțesc, conform așteptărilor, de o creștere în ser a enzimelor de proveniență miocardică (1.18.26).

3.4.2. MODIFICĂRI ALE ENZIMELOR SERICE ÎN BOLILE MUSCULATURII

O treime din masa corporală este reprezentată de musculatură, care conține cantități importante de CK-MM, LDH₄₋₅, aldolază (ALD) și cantități relativ mai reduse de ASAT. Ar trebui deci ca orice leziune musculară să se însoțească de creșteri marcate ale acestor enzime în ser.

Gradul de modificare a activității serice a enzimelor menționate depinde însă în mare măsură de activitatea musculaturii și implicit de fluxul sanguin capabil să antreneze în torenț circulator enzimele scurse din musculatura lezată. Așa se explică faptul că, după contuzii sau chiar după intervenții chirurgicale, care produc leziuni limitate ale musculaturii, creșterile activităților serice ale CK și LDH nu sunt deosebit de accentuate, musculatura lezată fiind pusă în repaus și având o circulație sânguină restrânsă.

Pe de altă parte, efortul fizic intens, care antrenează o creștere importantă a fluxului sanguin în musculatură, poate duce la creșteri semnificative ale CK, cauzate probabil de o hipoxie trecătoare. De altfel, așa cum s-a arătat anterior, hipoxia severă și generalizată a musculaturii, survenită în stările de șoc, se însoțește de creșteri importante ale enzimelor provenite din musculatură.

Creșteri moderate, dar semnificative ale CK-MM se pot decela și după injecții intramusculare cu tetraciclină, penicilină, diazepam și antiaritmice, fapt care atrage atenția asupra importanței naturii chimice a substanței injectate. De altfel leziunile toxice ale musculaturii între care și o intoxicație acută cu alcool, pot duce în unele cazuri la o așa zisă **rhabdomyoliză** și la creșteri extrem de accentuate ale CK (izoenzima CKMM).

Distrofiile musculare reprezintă însă principalul domeniu în care determinările de enzime își găsesc valoare diagnostică. De fapt, creșteri extrem de accentuate ale CK (izoenzima CKMM) care pot depăși de 10-30 de ori limita superioară a normalului se întâlnesc în distrofia musculară progresivă și mai ales în tipul Duchenne.

Modificările survenite în tipul rizomelic, tipul facio-scapulo-umeral, distrofia miotonică și în bolile neuromusculare sunt mai puțin exprimate. Important este faptul că cele mai importante creșteri ale CK se constată în fazele de debut ale unei distrofii musculare progresive, când manifestările clinice locomotorii sunt relativ mai puțin exprimate, iar pierderile de masă musculară sunt încă relativ reduse. Pe măsură însă ce boala progresează și musculatura este înlocuită cu țesut conjunctiv și grasos, activitatea CK scade, astfel încât la bolnavii imobilizați activitatea enzimelor serice ajunge adeseori la valori în limite normale.

Dacă, pe lângă creșterea izoenzimei CKMM se constată și valori crescute ale izoenzimei CKMB se poate bănui că procesul distrofic interesează și miocardul.

Determinările de CK și ALD pot fi utile și pentru stabilirea mecanismului genetic de transmitere a acestei anomalii cu caracter familial, care se transmite prin femei (gena patologică legată de cromozomul X) și care dă manifestări clinice doar la subiecții de sex masculin născuți din mame care prezintă o alelă mutantă. De fapt femeile purtătoare ale alelei mutante și care transmit anomalia, prezintă, de regulă, nivele serice de CK și ALD situate deasupra limitei superioare a normalului.

Dermatomiozitele se însoțesc și ele de creșteri evidente ale CK, LDH și ALD, mai ales în cursul puseelor acute, iar tratamentul cu cortizon normalizează nivelul seric al acestor enzime, rămânând însă fără efect în cazurile de distrofie musculară progresivă (1.18.27).

Hipertermia malignă este o formă particulară de miopatie, care survine în cursul anesteziilor (un caz la 20.000-50.000 anestezii) și care se însoțește de o creștere masivă a CK, ASAT și LDH.

Cei mai cunoscuți agenți declanșatori sunt halotanul și succinilcolina, dar au fost incriminate și eterul, tricloretilena, ciclopropanul, xilina, diazepamul și chiar barbituricele. Se consideră că astfel de agenți anestezici și miorelaxanți depolarizanți ar declanșa la anumiți subiecți cu o susceptibilitate par-

ticulară un flux rapid de calciu din depozitele intracelulare spre mioplasmă. Ca urmare, se produce o excesivă exacerbare a oxidărilor, evoluând cu decuplarea fosforilărilor oxidative și acidoză. Aceste fenomene sunt în măsură să explice atât leziunile fibrelor musculare și implicit creșterea în ser a enzimelor amintite mai sus cât și febra instalată brusc.

De fapt, la scurt timp de la administrarea unuia din agenții mai sus amintiți, subiectul susceptibil dezvoltă subit tahicardie, tahipnee, rigiditate musculară (debutată de regulă ca trismus), și o creștere extrem de accentuată a temperaturii (uneori 41°C - 42°C). Determinările de Ck, AST și LDH vin să confirme diagnosticul. Această "explozie metabolică" prezintă o deosebită gravitate (deces în aproximativ 60% din cazuri) de unde și denumirea de hipertermie malignă (22).

3.4.2.1. ALȚI PARAMETRI DE LABORATOR UTILIZAȚI ÎN DIAGNOSTICUL BOLILOR MIOCARDULUI ȘI ALE MUSCULATURII STRIATE

Pe lângă determinările enzimelor și izoenzimelor mai sus amintite, diagnosticul și monitorizarea leziunilor miocardului și ale musculaturii striate mai beneficiază de pe urma dozărilor imunochimice ale unor proteine specifice acestor țesuturi și trecute în ser. Așa, de exemplu, orice leziune acută a țesuturilor musculare și a miocardului duce la eliberarea de mioglobină, care având o greutate moleculară relativ redusă (în jur de 17.000) se elimină prin urină și poate fi detectată și în acest produs de excreție.

O importanță mai mare se acordă dozărilor serice de troponin T (TnT). Această proteină din structura musculaturii striate și din miocard contribuie împreună cu actina și tropomiozina la formarea miofibrilelor. Metode imunochimice bazate pe utilizarea anticorpilor monoclonali au reușit să identifice și să dozeze diferențiat un troponin T de origine musculară și un TnT specific miocardului. Se consideră că determinările de TnT miocardic ar fi mai specifice pentru leziunile miocardului decât dozările de enzime, că TnT ar crește mai rapid decât CK și că această creștere ar fi mai persistentă chiar decât creșterea activității LDH (23).

Durata unei dozări de TnT printr-un procedeu ELISA este însă de 90 minute, în timp ce determinarea activității CK nu depășește 7 minute. Acest neajuns, ca și costul ridicat a reactivilor pentru dozarea TnT miocardic (care necesită anticorpi monoclonali) restrâng utilizarea acestei dozări imunochimice doar pentru situații particulare (lezări concomitente ale musculaturii și miocardului, diagnosticul retrospectiv al infarctului).

3.4.3. ROLUL DOZĂRILOR DE ENZIME SERICE ÎN HEMATOLOGIA CLINICĂ

Anemiile megaloblastice constituie un exemplu tipic despre utilitatea determinărilor de enzime serice pentru stabilirea diagnosticului și evaluarea eficacității terapiei în hematologia clinică. De fapt, în astfel de cazuri creșterile activității serice a LDH (în special izoenzima LDH₁) depășesc de 4-20 ori limita superioară a normalului, iar tratamentul cu vitamina B₁₂ duce la normalizarea acestei activități în decurs de 10-14 zile. De notat că tendința de revenire spre normal a activității serice a LDH începe și devine evidentă înainte de apariția crizei reticulocitare (vezi fig.3.15). Merită semnalate observațiile conform cărora activitatea serică a LDH este întotdeauna crescută în anemiile megaloblastice cu nivel sanguin scăzut de vitamina B₁₂ și/sau acid folic și cu răspuns favorabil la terapia substitutivă, în timp ce, în anemiile cu aspect megaloblastic al măduvei, dar refractare la tratamentul cu vitamina B₁₂ sau cu acid folic, activitatea LDH nu este modificată în ser.

Astfel de cazuri de "anemie megaloblastică refractară" publicate de Simon și colab. în 1978 (30) ar putea fi doar aspecte particulare ale sindromului mielodisplazic. De fapt, în toate cazurile de sindrom mielodisplazic urmărite în laboratorul nostru, activitatea serică a LDH nu a depășit limita superioară a normalului (8).

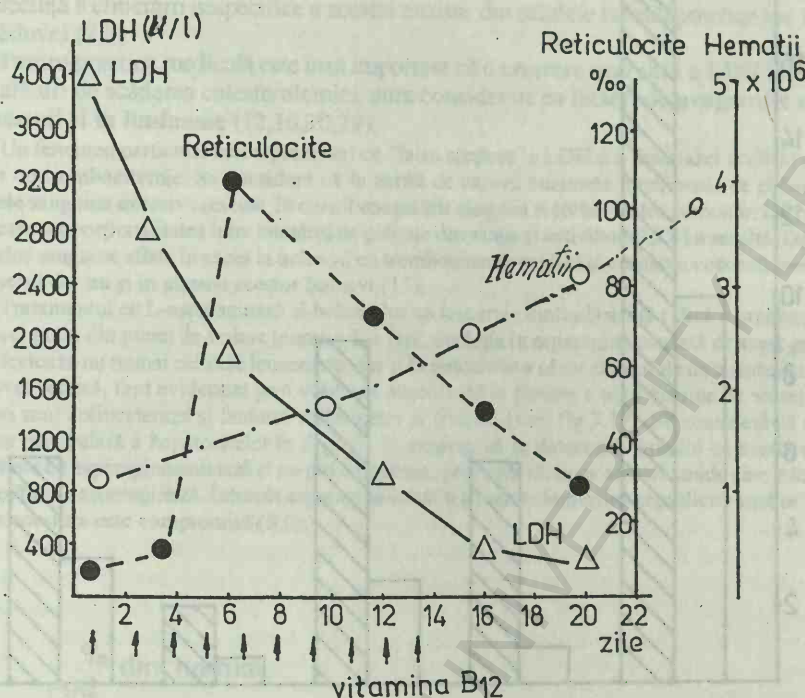


Fig.3.15. Exemplu ilustrativ privind comportarea LDH a reticulocitelor și a numărului de hematii în cursul tratamentului cu vitamina B₁₂ a unui bolnav cu anemie megaloblastică și răspuns postterapeutic adecvat. De notat scăderea promptă a LDH încă din primele zile de tratament substitutiv.

Valori normale ale activității serice a LDH s-au găsit în anemiile feriprive, anemiile sideroblastice, în cazurile de aplazie medulară și în majoritatea cazurilor de anemie hemolitică cu evoluție cronică. De notat totuși că în anemiile hemolitice creșteri ale LDH₁ și LDH₂ pot surveni în cursul crizelor de deglobulizare acută, dar chiar și în astfel de cazuri activitatea serică a LDH se situează sub media valorilor întâlnite în anemiile megaloblastice (7.8). Dacă însă, la un bolnav cu anemie hemolitică, se constată o creștere importantă și persistentă a activității serice a LDH, se poate bănuși că a intervenit o carență secundară de acid folic. O astfel de carență poate surveni ca urmare a unei exacerbări cu caracter compensator a eritropoiezei și implicit consumului excesiv a rezervelor de acid folic de către eritronul hiperplaziat (mai ales când acest consum exagerat nu este corectat de un aport adecvat). Întrucât în situația mai sus menționată elementele seriei roșii capătă un caracter macrocitar sau chiar megaloblastic, mecanismul creșterii activității serice a LDH este mai probabil similar cu cel care intervine în anemiile de tip Biermer.

Deși acest mecanism nu este încă pe deplin elucidat, se consideră că o degradare intramedulară a elementelor imature ale eritronului și un turnover accelerat al acestor celule s-ar solda cu o eliberare masivă de LDH care trece în sângele circulant.

Pentru un astfel de concept pledează și observațiile care au evidențiat valori de 2-3 ori mai ridicate ale activității LDH în serul sângelui medular al bolnavilor cu anemie megaloblastică.

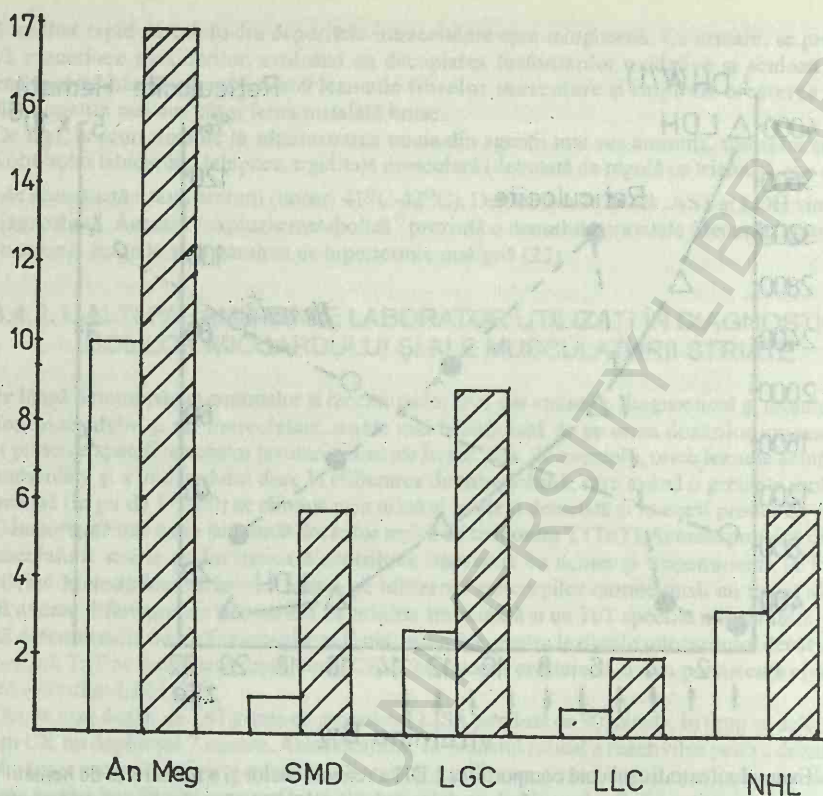


Fig.3.16. Comportarea activității LDH în serul sângelui recoltat din vena cubitală (coloane albe) și în serul sângelui medular (coloane hașurate) la bolnavi cu anemie megaloblastică (An.Meg.) la bolnavi cu sindrom mielodisplazic (SMD) în leucemia granulocitară cronică (LGC), leucemie limfoidă cronică (LLC) și la bolnavi cu limfom non Hodgkin (NHL). Pe ordonată - activitatea în multipli ai limitei superioare a normalului din serul sângelui periferic. Coloanele reprezintă mediana valorilor obținute (8).

comparativ cu activitatea acestei enzime în serul obținut din sângele recoltat din vena cubitală, la aceiași bolnavi. Pe de altă parte, activitatea LDH este relativ mult redusă atât în serul sângelui medular cât și în serul sângelui periferic al bolnavilor cu leucemie limfoidă cronică, o stare patologică în care nu survine o proliferare a elementelor mieloide. De notat însă, că în sindromul mielodisplazic, activitatea LDH din serul sângelui medular este disproporționat crescută față de valorile normale găsite în serul sângelui periferic al acestor bolnavi, ceea ce pretează la o analogie cu discordanța între celularitatea relativ bogată a măduvei și pancitopenia din sângele periferic (fig.3.16).

În ciuda dificultăților privind standardizarea probelor de sânge medular, apare evident că activitatea fosfatazei alcaline din serul sângelui medular este mult crescută față de cea din serul sângelui periferic, acest fenomen fiind mai pregnant în stările patologice caracterizate printr-o măduvă osoasă proliferată. Deși fosfataza alcalină din măduva osoasă s-a dovedit a fi mai susceptibilă la inactivare prin căldură, o caracteristică a fosfatazei alcaline de origine osoasă, nu se poate afirma cu certitudine la ora actuală, dacă activitatea crescută a fosfatazei alcaline, în serul sanguin al unei măduve proliferate, reprezintă o expresie a remodelării

osteoblastice a travelor osoase, consecutivă proliferării elementelor mieloides, sau este doar o consecință a eliberării nespecifice a acestei enzime din celulele hematopoietice sau stromale ale măduvei (7,8).

Pentru practica medicală este însă important că o creștere marcată a LDH în serul sanguin, alături de scăderea colesterolemiei, sunt considerate ca factori de prognostic rezervat în leucemii și în limfoame (12,16,20,29).

Un fenomen particular este reprezentat de "falsa creștere" a LDH și a fosfatazei acide în serul bolnavilor cu trombocitemie. Se consideră că în astfel de cazuri, enzimele menționate se eliberează din plăcuțele sanguine excesiv crescute, în cursul coagulării sângelui recoltat pentru laborator. De fapt există o oarecare proporționalitate între numărul de plăcuțe din sânge și activitatea LDH a serului. Degradarea plăcuțelor sanguine aflate în exces la bolnavii cu trombocitemie explică și creșterea concentrației de potasiu în serul dar nu și în plasma acestor bolnavi (15).

Tratamentul cu L-asparaginază al bolnavilor cu leucemie limfoidă acută ridică o problemă interesantă, cel puțin din punct de vedere teoretic. De fapt, depleția în asparagină cauzată de acest gen de terapie, afectează nu numai celulele leucemice, dar și hepatocitele a căror capacitate de a sintetiza proteine este sever redusă, fapt evidențiat prin scăderea accentuată în plasma a unor enzime de secreție hepatică cum sunt colinesteraza și factorul stabilizator al fibrinei (vezi fig.3.17). Se consideră că susceptibilitatea particulară a hepatocitelor la depleția în asparagină se datorează faptului că aceste celule nu sunt dotate cu asparaginosintetază și nu pot compensa, prin sinteză, lipsa acestei amide care a fost degradată decătore L-asparaginază. Întrucât asparagina intră în structura lanțurilor peptidice a multor proteine, sinteza acestora este compromisă (5,6).

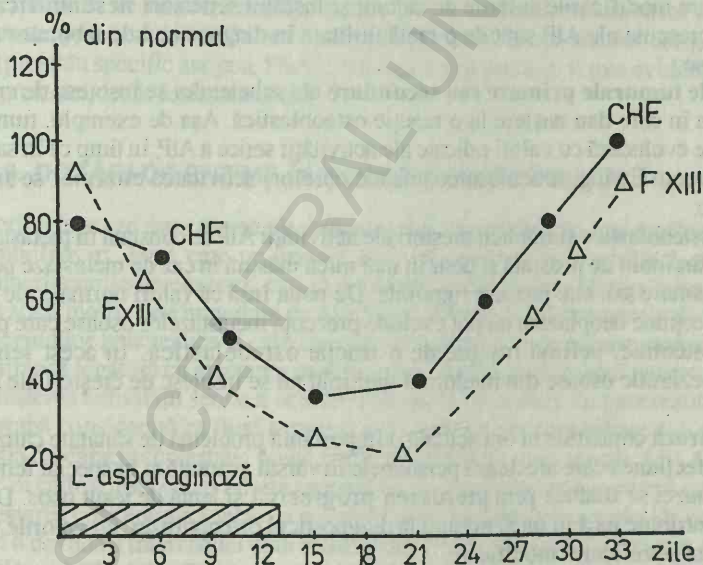


Fig.3.17. Comportarea colinesterazei serice (CHE) și a factorului XIII stabilizator al fibrinei în cursul terapiei cu L-asparaginază la un bolnav cu leucemie limfoblastică. Pe abscisă - timpul în zile, pe ordonată - activitatea enzimelor în procente din media valorilor normale. De notat scăderea paralelă a activităților CHE și a factorului XIII în urma acestei terapii care perturbă sinteza hepatică de proteine. La oprirea terapiei activitățile CHE și a factorului XIII tind să revină la normal.

3.4.4. DETERMINĂRI DE ENZIME SERICE ÎN BOLI ALE OASELOR

Fosfataza alcalină, secretată de osteoblaste și catalizând hidroliza unor esteri organici ai acidului fosforic, este la ora actuală singura enzimă cu importanță practică pentru patologia țesutului osos. De notat că izoenzima de origine osoasă diferă de fosfataza alcalină hepatică printr-o mai mare susceptibilitate la inactivarea prin căldură (33) și printr-o migrare electroforetică mai lentă (4).

Activitatea fosfatazei alcaline de origine osoasă crește în ser ori de câte ori are loc o reacție osteoblastică asociată cu formarea sau repararea țesutului osos. Așa se explică și faptul că la vârsta copilăriei și, în general în perioada de creștere (până la 15-17 ani) activitatea serică a fosfatazei alcaline (AIP) prezintă valori duble sau chiar triple față de cele întâlnite la adulți.

Rahitismul evoluează cu creșteri importante ale fosfatazei alcaline serice, iar tratamentul adecvat cu vitamina D reduce activitatea enzimei la valori normale corespunzătoare vârstei. Se consideră că această creștere a AIP este o consecință a reacției osteoblastice inefficiente, din cauza deficitului de calciu și de fosfați.

Hiperparatiroidismul se însoțește de creșteri deosebit de exprimate ale AIP, mai ales atunci când sub acțiunea hormonului paratiroidian în exces se ajunge la decalcifieri osoase și la o reacție osteoblastică compensatorie. În hiperparatiroidismul primar (adenom al paratiroidelor) se ajunge la o importantă hipercalcemie și hipofosfatenie (cu hiperfosfaturie) care alături de creșterea AIP contribuie la stabilirea diagnosticului.

Boala Paget (osteodistrofia deformantă) se caracterizează printr-un oarecare paralelism între procesele de osteoliză și osteogeneză și respectiv o alternare pe diverse zone a acestor procese, astfel încât calciul resorbit dintr-o zonă de liză a osului este utilizat într-o altă zonă. Ca urmare modificările suferite de calciul și fosfatul seric sunt nesemnificative, iar valorile mult crescute ale AIP sunt de o reală utilitate în diagnosticul de laborator al acestei afecțiuni osoase.

Procesele tumorale primare sau secundare ale scheletului se însoțesc de creșteri ale AIP, în măsura în care dau naștere la o reacție osteoblastică. Așa de exemplu, tumorile primare osteogene evoluează cu valori ridicate ale activității serice a AIP, în timp ce în sarcoamele osteolitice (sarcom Ewing, reticulosarcoame ale oaselor) activitatea enzimei se situează în limite normale.

Reacții osteoblastice și implicit creșteri ale activității AIP se constată în metastazele pornite dintr-un carcinom de prostată și doar în mai mică măsură în caz de metastaze pornite din carcinoame mamare sau alte procese tumorale. De notat însă că valori normale ale AIP la un bolnav cu o afecțiune neoplazică nu pot exclude prezența metastazelor osoase care pot evolua uneori doar osteolitic, nefiind însoțite de o reacție osteoblastică. În acest sens este de menționat că leziunile osoase din mielomul multiplu nu se însoțesc de creșteri ale activității AIP în ser.

Osteoporoza constituie la ora actuală o importantă problemă de sănătate cauzatoare de invaliditate. Afecțiunea care afectează persoanele în vârstă avansată și în special femeile după vârsta menopauzei se traduce prin pierderea progresivă și lentă de țesut osos. Din păcate laboratorul contribuie încă în mică măsură la diagnosticul osteoporozei, iar valorile fosfatazei alcaline nu sunt semnificativ modificate.

Scăderi ale activității fosfatazei alcaline au fost semnalate în afecțiuni evoluând cu o încetinire a osificării și neînsoțite de reacții osteoblastice, ca de exemplu în deficitul sever de vitamină C, hipotiroidism sever instalat încă din copilărie, precum și în caz de inhibare a enzimei ca urmare a perfuziilor cu EDTA administrate în scop terapeutic la subiecții intoxicați cu plumb. Cele mai importante scăderi ale AIP de origine osoasă se întâlnesc însă în hipo-

fosfatazie, o afecțiune genetică evoluând cu fenomene de rahitism rezistent la terapia cu vitamina D.

Atunci când contextul clinic nu permite o orientare asupra provenienței AIP serice și când nu sunt condiții pentru diferențierea izoenzimei osoase față de cea hepatică se recomandă explorarea activității serice a γ -glutamilttransferazei (γ GT). Astfel creșterile concomitente ale AIP și γ GT atrag atenția spre o origine hepatică a AIP în cadrul unei colestaze, pe când o creștere izolată a AIP poate sugera izoenzima de proveniență osoasă (18,26,34).

3.4.5. DOZĂRILE DE FOSFATAZĂ ACIDĂ ȘI CARCINOMUL PROSTATEI

Investigarea activității serice a fosfatazei acide (AcP) este indicată în suspiciunea de carcinom al prostatei. Din păcate creșteri evidente ale acestei enzime survin doar în stadiile relativ avansate, atunci când tumora a depășit capsula și mai ales atunci când a produs metastaze osoase. Ca urmare, o creștere concomitentă și exprimată a AIP și AcP sugerează metastaze osoase ale carcinomului de prostată și poate diferenția o astfel de situație de alte afecțiuni ale osului. De notat că o creștere moderată, uneori abia schițată, a activității serice a AcP poate surveni și în unele boli osoase cum sunt osteopetroza (boala Albers-Schönberg), afectarea osului în boala Gaucher și în unele cazuri de metastaze osoase ale unui cancer mamar, iar "creșteri false" ale AcP în ser se pot constata în trombocitemii. Originea prostatică a fosfatazei acide poate fi detectată pe baza proprietății izoenzimei prostatice de a fi rapid inhibată de tartrat (izoenzima prostatică tartrat inhibabilă). Astfel activitatea AcP prostatică = activitatea AcP - activitatea AcP + tartrat.

Determinările de fosfatază acidă și-au pierdut însă mult din valoarea lor diagnostică, de când se poate practica dozarea imunochimică (ELISA) a așa-zisului antigen specific al prostatei (prostata specific antigen, PSA) care crește mai precoce și mai evident în caz de carcinom al prostatei decât fosfataza acidă.

3.4.6. DOZĂRI DE ENZIME ÎN BOLILE PANCREASULUI

Suferințele acute sau cronice ale pancreasului survin de cele mai multe ori în asociere cu alte îmbolnăviri, între care pe primul plan se situează litiaza biliară și alcoolismul. Hipertrigliceridemii severe (vezi cap.1) predispun și ele la dezvoltarea leziunilor pancreasului. Din acest motiv, este important de a se face o diferențiere între testele de laborator consecutive leziunilor pancreatice și cele cauzate de suferința altor organe, survenite concomitent și în strânsă legătură cu afectarea pancreasului. Astfel, deși țesutul pancreatic este bogat în γ GT, creșterea activității serice a acestei enzime, la un bolnav cu pancreatită acută, poate fi mai degrabă considerată ca fiind expresia unei suferințe hepato biliare și a alcoolismului. Hepatopatia cu caracter colestatic poate explica și nivelele crescute ale AIP, ASAT și ALAT care cresc în cadrul unei colici biliare precedând sau evoluând concomitent cu o pancreatită acută. Creșterea concentrației serice a acizilor biliari în numeroase astfel de cazuri constituie de altfel o dovadă a intervenției unui reflux biliar. Pe de altă parte, o creștere a LDH (izoenzimele LDH₄ și LDH₅) și a CK (izoenzima CKMM), survenită la un bolnav cu o formă deosebit de severă de pancreatită acută, se explică în cadrul stării de șoc și respectiv a hipoxiei musculaturii.

Principalele enzime, a căror creștere poate fi pusă în legătură directă cu lezarea pancreasului și care sunt utilizate în mod curent în scop de diagnostic, sunt alfa-amilaza și lipaza. Aceste enzime trec în ser ca urmare a unei alterări a partiției exo-endocrine, dar inter-

pretarea variațiilor suferite de activitatea lor implică o serie de dificultăți care sunt analizate în cele de urmează.

3.4.6.1. PANCREATITA ACUTĂ

Formele severe ale acestei boli sunt o consecință a autodigestiei țesutului pancreatic și a necrozei consecutive a parenchimului. Există însă și numeroase cazuri în care leziunile nu ajung până la forme necrotico-hemoragice și se limitează la modificări de membrană și la edem.

Atât în formele grave cât și în cele mai atenuate se constată o creștere a activității α -amilazei serice, care, la 4-5 ore de la debutul durerilor abdominale, poate ajunge la valori de 5 ori superioare celor normale, iar în decurs de 24 ore pot depăși de 10 ori limita superioară a normalului. Gradul de creștere al α -amilazei este însă variabil de la caz la caz și nu s-a putut stabili o legătură certă între gradul acestei creșteri și gravitatea fenomenelor clinice sau evoluția ulterioară a bolii (1).

Datorită eliminărilor urinare ale α -amilazei, valorile anormal crescute ale acestei enzime tind să revină spre normal deja din ziua a doua de la debutul fenomenelor acute și doar în rare cazuri persistă mai mult de 72 de ore. Ca urmare, determinarea activității α -amilazei în urina colectată pe o perioadă de 24 de ore poate detecta retrospectiv eliberări ale enzimei din acinii pancreasului.

Valorile amilazuriei trebuie însă întotdeauna raportate la volumul pe 24 de ore al urinei. De notat că în cazurile evoluând cu stare de șoc și oligurie eliminările urinare de α -amilază se reduc, iar creșterea activității enzimei în ser persistă mai mult de 72 ore.

Valoarea diagnostică a determinărilor de α -amilază este limitată și datorită faptului că activitatea serică a acestei enzime depinde nu numai de izoenzima pancreatică, dar și de cea provenită din glandele salivare, iar parotiditele se însoțesc de creșteri importante ale amilazei serice (1). Există însă posibilitatea de a diferenția cele două izoenzime prin separări electroforetice, prin rezistența la diverși inhibitori și prin adsorbția pe schimbători de ioni.

Alte stări patologice care pot duce la creșteri ale α -amilazei serice sunt ulcerul duodenal penetrant în pancreas, ocluziile intestinale, infarctul mezenteric, colecistita acută precum și administrările de opioace, care adeseori produc un spasm tranzitoriu al sfincterului Oddi. O suferință pancreatică cu caracter trecător nu poate fi însă exclusă în situațiile mai sus menționate.

Pe de altă parte, perturbări în procesul de eliminare pe cale urinară a α -amilazei se însoțesc de creșteri ale activității enzimei în ser, fenomen constatat în boli renale, evoluând cu reducerea filtrării glomerulare. O situație particulară este reprezentată de așa-zisa macroamilazemie când, în urma formării unor complexe cu greutate moleculară ridicată formate de enzimă cu imunoglobulinele (mai ales IgA), se previne filtrarea glomerulară a acestor complexe și implicit a α -amilazei a cărei activitate crește în ser. Acest fenomen nu pare a avea însă consecințe patologice și este lipsit de semnificație clinică.

Surprinzătoare sunt însă creșterile activității serice ale α -amilazei în sarcina extrauterină, tumori ovariene, salpingite, precum și în sindromul paraneoplazic întovărășind, de exemplu, unele carcinoame bronșiale. Mecanismele care duc la astfel de creșteri nu sunt încă pe deplin elucidate, incriminându-se în unele cazuri prezența de țesut pancreatic ectopic.

Determinările de lipază serică, o enzimă considerată a fi mai specifică țesuturilor pancreatice și care persistă mai mult timp în ser, nu înlătură decât în parte inconvenientele determinărilor de α -amilază (Vezi tabel 3.5).

Tabel 3.5

Cauze extrapancreatice ale creșterii activităților serice ale amilazei și lipazei.

+ = activitate crescută; - = activitate normală;

* = afectarea pancreasului, nu poate fi exclusă;

** = asocierea unei pancreatite secundare duce și la creșterea lipazei.

	α -amilaza	Lipaza
Ulcer perforat*	+	+
Ileus*	+	+
Infarct mezenteric*	+	+
Colecistită*	+	+
Parotidită acută**	+	-
Insuficiență renală	+	-
Macroamilazemie	+	-
Sarcină extrauterină	+	-
Sindrom paraneoplazic	+	-

În schimb, dozările de tripsinogen prin metode radioimunologice sau prin ELISA sunt considerate a fi deosebit de specifice, acest zimogen fiind produs doar de acinii pancreatici (11).

Observațiile clinice seriate au relevat că în cazurile în care factorii de risc ai pancreatitei acute (de exemplu litiiza biliară, alcoolismul, hipertrigliceridemiile excesive) persistă, atacurile de pancreatită pot căpăta un caracter recurențial, iar suferința pancreatică trece spre o formă cronică (1,18).

3.4.6.2. PANCREATITA CRONICĂ

Cea mai mare parte a bolnavilor de pancreatită cronică sunt alcoolici, iar în cazuri mai rare se pot incrimina alți factori toxici sau hepatopatiile colestatice evoluând cu creșteri ale nivelului plasmatic de acizi biliari. Boala are un caracter lent progresiv și ajunge cu timpul la insuficiență pancreatică. Diagnosticul pancreatitei cronice întâmpină însă dificultăți deoarece manifestările clinice sunt necaracteristice, iar creșterile activității α -amilazei din ser sau din urină survin doar în cursul eventualelor atacuri recurente, fiind de altfel din ce în ce mai puțin exprimate pe măsură ce parenchimul pancreatic este înlocuit de țesut scleros.

Avându-se în vedere că pancreasul sintetizează zilnic câteva grame de enzime pe care le secretă în duoden, este firesc ca o insuficiență a acestui organ să ducă la scăderea α -amilazei și a lipazei în suc duodenal. Datorită însă partiției exo-endocrine mai sus amintite, ar fi de așteptat ca activitatea acestor enzime să scadă și în ser. În realitate, scăderea activității serice α -amilazei în cazurile de insuficiență pancreatică este puțin exprimată. Nu trebuie uitat că, în lipsa unui proces acut de pancreatită, mai bine de două treimi din activitatea α -amilazei

serice este dată de izoenzima salivară, astfel încât o eventuală scădere a componentei pancreatice are efect minor asupra activității enzimactice globale din ser. Dozările selective ale izoenzimei pancreatice, determinările de lipază serică sau dozarea radioimunologică a tripsinogenului ar putea detecta însă și stările de hipoenzimie cauzate de reducerea parenchimului pancreatic.

De fapt, insuficiența secretorie a pancreasului poate fi mai obiectiv evaluată prin dozarea enzimelor secretate în sucul duodenal pe unitatea de timp în urma stimulării maximale cu secretină-pancreozimină, sau prin dozări de chimotripsină în materiile fecale (1,19).

În scopul evitării intubării duodenului, s-a imaginat un test bazat pe administrarea orală a unui peptid sintetic (N-benzoyl-L-tyrosyl-p-aminobenzoic acid). Acest peptid este clivat de chimotripsină în sucul duodenal, eliberând acid p-aminobenzoic (PABA) care se absoarbe din intestin în circulație, și se elimină prin urină unde poate fi dozat. La bolnavii cu insuficiență pancreatică recuperarea în urină a PABA este de aproximativ 50% față de normali. Acest test este însă influențat de eventuale perturbări renale, intestinale sau hepatice (3,19).

Insuficiența pancreatică poate fi cauzată nu numai de o pancreatită dar și de alte procese patologice, ca, de exemplu, fibroza chistică a pancreasului, carența severă de proteine (Kwashiokor), hemocromatoza, carcinoame ale pancreasului sau ale regiunii ampulare, precum și deficite cu caracter genetic afectând sinteza diferitelor enzime pancreatice.

3.4.6.3. ENZIMELE SERICE ÎN CARCINOMUL PANCREASULUI

Atunci când carcinomul interesează capul pancreasului și obstruează ductul biliar principal determinând astfel o colestază extrahepatică, sau în caz de metastaze hepatice ale unui astfel de carcinom se ajunge la creșterea enzimelor indicatoare ale colestazei, ca de exemplu ALP și γ GT, această creștere accentuându-se progresiv în cursul evoluției. Activitatea serică a enzimelor provenite din pancreas, respectiv amilaza și lipaza nu se modifică însă în mod semnificativ în carcinoamele pancreasului, chiar și atunci când neoplasmul duce la obstrucția ductului pancreatic.

Astfel de rezultate negative privind comportarea α -amilazei și lipazei se datoresc probabil caracterului lent și progresiv cu care se instalează obstrucția și mai ales atrofiei țesutului pancreatic (1).

3.4.7. ENZIMELE SERICE ÎN BOLILE FICATULUI

Dozările de enzime serice își găsesc o largă aplicabilitate în bolile ficatului. În esență, astfel de determinări pot oferi informații cu privire la următoarele aspecte ale patologiei hepatice:

1) Detectarea unei creșteri patologice a permeabilității membranei hepatocitului (de ex. ASAT, ALAT, GLDH, LDH₄₋₅).

2) Depistarea unei insuficiențe a sintezei de proteine în hepatocite (de ex. colinesteraza serică și enzime cu rol în coagularea sângelui).

3) Indicii cu privire la existența unui proces de colestază (de ex. ALP și γ GT).

4. Indicii cu privire la o eventuală inducere de enzime (ca exemplu tipic γ GT).

Asupra valorii diagnostice și a limitelor determinărilor de enzime în bolile ficatului se va reveni pe larg în capitolul 5 în contextul mai larg al fiziopatologiei hepatice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Adolph, L., Lorenz, R. Enzyme diagnosis in diseases of the heart, liver and pancreas. S. Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 1982.
2. Annoni, G., Chirillo, R., Swanie, D. Prognostic value of mitochondrial aspartate aminotransferase in acute myocardial infarction. Clinical Biochemistry, 1986, 19, 235-238.
3. Arvanitakis, C., Greenberger, N.J. Diagnosis of pancreatic disease by synthetic peptide. A new test of exocrine pancreatic function. Lancet, 1976, 1: 663-666.
4. Chapman, J.F., Woodard, L.L., Silverman, L.M. Alkaline phosphatase isoenzymes in Kaplan and Pesce (Editors). Clinical chemistry C.V. Comp. St. Louis, Toronto, Princeton, 1984, 1098-1101.
5. Cucuianu, M., Bornuz, F., Macavei, I. Effect of L-asparaginase upon serum pseudocholinesterase and ceruloplasmin levels in patients with acute leukemia. Clin. Chim. Acta, 1972, 38, 97-102.
6. Cucuianu, M., Deac, M., Bornuz, F., Macavei, I. Effect of L-asparaginase therapy upon some indices of protein metabolism in leukemic patients. Rev. Roum. Med. Int., 1973, 10, 121-131.
7. Cucuianu, M., Dosan, L., Hoinărescu, E., Pinteală, L., Fischer, S. Comportarea lacticodehidrogenazei, colinesterazei și -glutamiltransferazei în sindroamele anemice. Clujul Medical, 1984, 57, 103-109.
8. Cucuianu, A., Trif, I., Cucuianu, M., Petrov, L., Pațiu, M., Basarab, C. Serum lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase activities and serum cholesterol level in bone marrow blood. Rev. Roum. Med. Int., 1996, 34, 173-182.
9. Cucuianu, M., Trif, I., Cucuianu, A. Hemostaza. Biochimie, Fiziopatologie, Clinică. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1994.
10. Dubach, D.C. Enzymes in urine and kidney. Ed. Hans Huber Bern-Stuttgart, 1968.
11. Elias, E., Redshaw, M., Wood, T. Diagnostic importance of changes in circulating concentrations of immunoreactive trypsin. Lancet 1977, 11, 66-68.
12. Ferraris, A.M., Giuntini, P., Gactani, G.P., Serum lactic dehydrogenase activity as a prognostic tool for Non-Hodgkin Lymphoma. Blood, 1979, 54, 928-932.
13. Gelehrter, T.D. Enzyme induction. New Eng. J. Med., 1976, 924, 522-526, 589-595, 646-651.
14. Goldberg, D.M. The expanding role of microsomal enzyme induction, and its implications for clinical chemistry. Clinical chemistry, 1980, 26, 691-699.
15. Kluge, A., Hang, H. Durch Thrombozyten bedingte Enzymaktivitätserhöhung. Med. Welt, 1970, 21/46, 1981-1984.
16. Kornberg, A., Poliak, A. Serum lactate dehydrogenase levels in acute leukemia. Marked elevations in lymphoblastic leukemia. Blood, 1980, 56, 351-355.
17. Linder, M.E., Gilman, A.G. G Proteins Scientific American, 1992, 267, 56-65.
18. Meyer-Bertenath, J.G. Enzym diagnostik Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn, 1976.
19. Mitchell, C.J., Humphrey, C.S., Bullen, A.W., Kelleher, J. The diagnostic value of the oral pancreatic function test. Scand. J. Gastroenterol, 1979, 14, 183-187.
20. Muller, C.P., Wagner, A.V., Mancher, C., Steinke, B. Hypocholesterolemia, an unfavorable feature of prognostic value in chronic myelogenous leukemia. Eur. J. Haematol. 1989, 43, 235-239.
21. Oosting, J.D., Derksen, R.H.W.M., Bobbink, I.W.G., Hackeng, T.M., Bouma, B.N., de Groot, P.G. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C or protein S. An explanation for their pathogenic mechanism? Blood, 1993, 81, 2618-2625.
22. Pfaff, G., Beyer, A. Maligne Hyperthermie. Annaesthesiologie und Intensivmedizin, 1981, 22, 67-74.
23. Puschendorf, B., Dienst, F. Kardiales Troponin T-ein hochspezifischer Laborparameter für den akuten Myokardschaden. Labor Aktuell, 1995, 5, 5-9.
24. Richterich, R. Enzymopathologie. Ed. Springer Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958.
25. Rodwell, V. Enzymes in Harper (Editors). Review of Physiological Chemistry ed. 14 Lange Med. Publ. Los Altos, Calif. 1973.
26. Schmidt, E., Schmidt, F.W. Enzym Fibel Boehringer Mannheim GmbH, 1971.
27. Schmidt, E., Schmidt, F.W. Klinische Pathophysiologie 3rd Edition Ed. Thieme, Stuttgart, 1975.
28. Shapiro, S.S., Siegel, J.E. Hemorrhagic disorders associated with circulating inhibitors in Ratnoff and Forbes (Editors). Disorders of Hemostasis, 1991, 245-266.

29. Shipp, M. A predictive model for aggressive non-Hodgkin lymphoma. The non-Hodgkin Lymphoma prognostic factors project. N.Eng.J.Med, 1993, 329, 987-992.
30. Simon, S.D., Kim, H.C., Wu, H.V., Saidi, P. Serum lactic dehydrogenase activity in refractory megaloblastic anemia. Blood, 1978, 52, suppl. 1, Abstr. 46 pag.90.
31. Sunder-Plassmann, G. ANCA - Neue diagnostische Aspekte in der nephrologie. Labor Aktuell, 1991, 3, 10-13.
32. Swan H.J.C., Ganz, W. Thrombolysis in acute myocardial infarction in Sobel, Collen, Grossbard (Editors). Tissue plasminogen activator in thrombolytic therapy. Marcel Dekker, inc. New-York and Basel 1987, 57-74.
33. Tan, I.K., Chio, L.E., Teow-Suak, L. Heat stability of serum alkaline phosphatase in bone and liver diseases. Clin.Chim.Acta, 1972, 41, 329-334.
34. Wewalka, F. Enzyme bei Knochenerkrankungen und Cholestase in F.W.Schidt (Editor) Praktische Enzymologie Ed.Hans Huber Bern, Stuttgart, 1968, 319-354.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliți corespondența între noțiunile de mai jos și definiția lor:

- | | |
|-------------------------|--|
| A. Inductor | I. Substanța micromoleculară care determină prin prezența ei o creștere a sintezei de enzimă. |
| B. Corepresor | II. Substanță cu structură chimică similară substratului care se poate fixa în locul acestuia în centrul activ al enzimei. |
| C. Inhibitor competitiv | III. Substanță micromoleculară care determină, prin intermediul aparatului genetic al celulei, o reducere a sintezei de enzimă. |
| D. Inhibitor alosteric | IV. Substanță care nu se fixează în centrul activ al enzimei, dar care intrată într-o altă zonă a moleculei de enzimă îi produce acesteia modificări conformaționale diminuându-i afinitatea față de substrat. |

2. Izoenzimele sunt:

- A. Inhibitori ai reacțiilor enzimatiche.
- B. Enzime care catalizează o aceeași reacție, dar care diferă sub aspectul proprietăților fizico-chimice.
- C. Substanțe necesare pentru desfășurarea unor reacții enzimatiche.
- D. Centri activi ai enzimelor.

3. Stabiliți corespondența între substanțele de mai jos și efectele lor asupra unor reacții enzimactice:

- | | |
|------------------------|---|
| A. Citrat | I. Determină o inducere a enzimelor cu rol în utilizarea hidraților de carbon și o represie a enzimelor implicate în gluconeogeneză. |
| B. Glucoză + insulină | II. Prin mecanism alosteric determină o inhibare a fosfofructokinazei și deci o limitare a glicolizei dar totodată activează alosteric acetil-CoA carboxilaza accelerând sinteza de acizi grași. |
| C. Glucocorticoizi | III. Determină o inducere a enzimelor cu rol în gluconeogeneză (piruvat carboxilază, fosfoenolpiruvatecarboxikinază). |
| D. Adrenalină | IV. Având structură analoagă cu vitamina K inhibă competitiv sistemul enzimatic de carboxilare a acidului glutamic din compoziția factorilor coagulării dependenți de vitamina K. |
| E. Derivate cumarinice | V. Prin intermediul receptorilor adrenergici, ai unor proteine G și ai formării de c-AMP activează o proteinchinază care duce la activarea prin fosforilare a fosforilazei b și inițiază glicogenoliza. |
| F. Acetil-CoA | VI. Activează alosteric piruvatecarboxilaza și activează gluconeogeneza. |

4. Inhibitorii competitivi au drept efect:

- Scăderea vitezei maxime (V) a reacției enzimactice.
- Creșterea valorii Km
- Modificări conformaționale ale enzimei care-i reduc afinitatea față de substrat.
- Toate aceste efecte.
- Nici unul.

5. Fenomenul de inducere a enzimelor din sistemul oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte ar putea explica:

- O metabolizare mai rapidă a unor medicamente ca de exemplu anticoagulantele orale.
- Fenomene de osteoporoză prin metabolizarea accelerată a vitaminei D la epilepticii tratați cu barbiturice.
- Agravarea unei porfirii acute.
- Creșterea γ -glutamiltransferazei în ser.
- Toate aceste fenomene.
- Nici unul nu are o explicație plauzibilă.

6. Stabiliți corespondența între modificarea activității serice a enzimelor de mai jos și semnificația clinică și fiziopatologică a acestor modificări:

- | | |
|---|---|
| A. Creșterea ALAT la peste 5 ori limita superioară a normalului | I. Leziuni ale pancreasului; posibil în cadrul unei pancreatite acute. |
| B. Creșterea α -amilazei serice la de 4 ori limita superioară a normalului la un bolnav obez care acuză dureri "în bară" | II. Creșterea exprimată a permeabilității membranei hepatocitului; posibil hepatită acută |
| C. Creșterea fosfatazei acide la dublul valorii normale | III. Suspiciune de carcinom prostatic care a depășit capsula |
| D. Creșterea concomitentă a fosfatazei alcaline și a γ -glutamiltransferazei. | IV. Fenomene de colestază |
| E. Scăderea marcată a colinesterazei serice (sub 30% din media valorilor normale) | V. Leziuni miocardice; posibil un infarct miocardic acut. |
| F. Creșterea CK la de peste 5 ori limita superioară a normalului, izoenzima CKMB fiind de 10% din activitatea totală a CK | VI. Alterarea funcției proteosintetice a ficatului |

7. Creșterea exprimată a cretinkinazei (CK) la un caz de distrofie musculară progresivă se întâlnește mai frecvent:

- A. În fazele de debut ale distrofiei.
- B. În fazele avansate cu atrofie pronunțată a musculaturii.
- C. În ambele situații.
- D. Determinările de CK nu sunt indicate în astfel de cazuri.

8. În care din bolile hematologice de mai jos se constată cea mai exprimată creștere a lactatdehidrogenazei serice ?

- A. Anemie megaloblastică.
- B. Sindrom mielodisplazic.
- C. Leucemie limfoidă cronică.
- D. Limfom non-Hodgkin.

9. Stabiliți corespondența între enzimele de mai jos și intervalul de timp de la debutul unui infarct miocardic, la care se constată un maxim de activitate a enzimei în ser:

- | | | |
|-----------------------------------|------|-----------|
| A. Lactatdehidrogenază (LDH) | I. | 24-60 ore |
| B. Aspartataminotransferază (AST) | II. | 18-48 ore |
| C. Creatinkinaza (CK) | III. | 16-36 ore |

10. Creșterea activității serice a fosfatazei alcaline într-o afecțiune osoasă indică:

- A. Procesele destructive ale osului.
- B. Procese reparative (proliferarea osteoblastelor).
- C. Alterarea matriței proteice a osului.
- D. Dezvoltarea unui mielom multiplu.

11. În care din stările patologice de mai jos se poate întâlni o creștere a α -amilazei în ser, dar nu și a lipazei serice ?

- A. Pancreatită acută
- B. Parotidită fără complicații pancreatice
- C. Macroamilazemie
- D. Insuficiență renală
- E. Ulcer perforat
- F. Ileus
- G. Sarcină extrauterină.

12. Care din explorările de mai jos nu este utilă pentru diagnosticul unei insuficiențe pancreatice consecutive unei pancreatite cronice ?

- A. Dozarea activității globale a α -amilazei în ser.
- B. Dozarea chimotripsinei în materiile fecale.
- C. Dozarea radioimunologică a tripsinogenului în ser.
- D. Testul oral cu N-benzoil-L-tirosil-p-aminobenzoat.

13. Stabiliți corespondența între izoenzimele de mai jos și unele din particularitățile lor:

- | | | |
|--|------|--|
| A. Fosfataza alcalină osoasă | I. | Crește în hipotiroidism și după injecții cu diazepam. |
| B. CM-MM | II. | Este susceptibilă la inactivarea prin căldură; prezintă valori crescute la copil și adolescent. |
| C. LDH ₄ , LDH ₅ | III. | Provine din musculatură și ficat; are un timp de înjumătățire scurt |
| D. α -amilaza salivară | IV. | Reprezintă mai bine de două treimi din activitatea totală a amilazei din ser la subiecții normali. |

14. Tromboliza eficientă într-un caz de infarct miocardic duce la o creștere importantă și precoce a CK deoarece reperfuzia zonei infarctate face ca enzimele ieșite din celule să fie rapid trecute în circulație.

15. Activitatea LDH rămâne crescută și la 10 zile de la debutul unui infarct miocardic deoarece izoenzimele LDH₄, LDH₅ persistă mai mult timp în circulație.

16. Activitatea LDH din serul sângelui periferic este întotdeauna crescută în sindromul mielodisplazic deoarece la acești bolnavi se constată o discrepanță între pancytopenia periferică și celularitatea bogată a măduvei.

17. Activitatea inițial mult crescută a CK în serul unui bolnav cu distrofie musculară progresivă scade în stadiile avansate ale bolii deoarece boala se transmite printr-un mecanism legat de sex (alela patologică pe cromozomul X).

18. Activitatea serică a α -amilazei persistă cel puțin 7 zile de la debutul unei pancreatite acute deoarece de regulă această enzimă nu se elimină prin urină.

19. Bolnavii epileptici tratați în mod cronic cu fenobarbital sau fenitonină pot dezvolta osteoporoză deoarece sub efectul inductor al acestor medicamente are loc o metabolizare și inactivare rapidă a vitaminei D în sistemul microsomial al oxidoreductazelor cu funcții mixte.

Cheia la întrebările 14-19:

- a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
- b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
- c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
- d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
- e. ambele afirmații incorecte.

4. FIZIOPATOLOGIA BIOCHIMICĂ A SECREȚIEI BILIARE

Volumul bazal zilnic al secreției de bilă este de 500-600 ml iar principalele componente cu importanță pentru diagnosticul de laborator sunt bilirubina și acizii biliari.

4.1. METABOLISMUL BILIRUBINEI

Bilirubina este un tetrapirool liniar liposolubil produs în macrofage prin catabolismul enzimatic al fracțiunii hem din diversele hemoproteine. Pentru înțelegerea semnificației modificărilor suferite de nivelul plasmatic al bilirubinei în diverse stări patologice este necesară o prealabilă prezentare a mecanismelor implicate în formarea acestui produs de catabolism, captarea și glicuronoconjugarea lui în ficat, eliminarea prin bilă și modificările suferite de bilirubină în intestin.

4.1.1. FORMAREA BILIRUBINEI

Principala sursă de bilirubină (peste 80%) este reprezentată de hemoglobina eliberată din hematitele îmbătrânite și captate de macrofage. La această principală sursă se mai adaugă diversele hemoproteine hepatice (citocromi, oxidaze, catalaze) care deși în cantitate mai redusă decât hemoglobina au o viteză de reîmprospătare (turnover) deosebit de rapidă. Contribuția acestor hemoproteine ca și a mioglobinei la producerea de bilirubină pare a fi însă de importanță redusă în cazul organismului uman (23). Distrucția intramedulară a unor elemente din seria roșie contribuie însă în proporție de 15-20% la formarea de bilirubină, acest proces accentuându-se mai ales în cazurile de eritropoieză inefficientă (anemii megaloblastice, talasemii) când elementele eritronului se degradează înainte de a fi lansate în circulație.

Mecanismul biochimic al formării de bilirubină implică, într-o primă etapă, ruperea punții meten a hemului, sub acțiunea unui sistem enzimatic denumit **hemoxigenază**, rezultând biliverdină, care se desprinde de pe proteina fixatoare, eliberându-se și fierul.

Într-o etapă ulterioară biliverdina se transformă în bilirubină sub acțiunea **biliverdinreductazei** (vezi fig.4.1). Transformarea hemului în bilirubină la nivelul macrofagelor decurge relativ rapid, în decurs de 2-3 ore (23). Se explică astfel faptul că în anemiile hemolitice se ajunge de regulă la hiperbilirubinemie și doar rareori la hemoglobinemie și hemoglobinurie. Cu alte cuvinte, viteza de eliberare a hemoglobinei în cursul hemolizelor patologice depășește doar în mod excepțional viteza de degradare a hemului și implicit formarea de bilirubină.

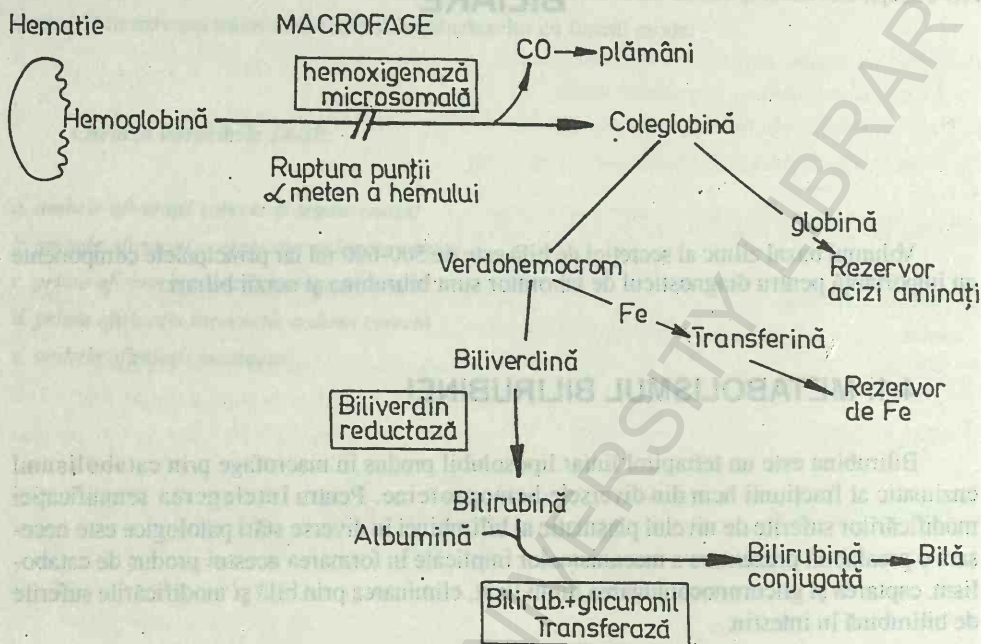


Fig.4.1. Reprezentare schematică a formării de bilirubină din hemoglobină. De notat formarea unor compuși intermediari cum este coleglobina, care după desfacerea legăturii cu globina trece în verdohemocrom, iar după desprinderea fierului ajunge biliverdină.

4.1.2. TRANSPORTUL, CONJUGAREA ȘI ELIMINAREA PRIN BILĂ A BILIRUBINEI

Bilirubina formată în macrofage și pătrunsă în plasmă se leagă reversibil de albuminele serice, capacitatea maximă de fixare fiind de 2 moli de bilirubină pentru 1 mol de albumină. O astfel de fixare a bilirubinei pe albumină previne o difuzare anarhică a bilirubinei în diverse țesuturi. Datorită însă dispoziției discontinue a celulelor endoteliale și a membranei bazale de la nivelul capilarelor sinusoidale care mărginesc cordoanele de hepatocite, moleculele de albumină încărcate cu bilirubină din sângele circulant vin în contact direct cu celulele hepatice, iar prin intermediul unor molecule proteice din membrana acestor celule bilirubina este captată și internalizată în citoplasmă, unde este fixată de anumite proteine denumite ligandine. De notat că bilirubina prezintă o afinitate mai mare față de ligandine decât față de albumina serică. În principiu, bilirubina desprinsă de pe albumină și pătrunsă în hepatocite ar putea difuza înapoi în plasmă prin membrana lipidică a celulelor, datorită caracterului său liposolubil. Acest proces este însă mult limitat atât datorită ligandinelor mai sus amintite, cât și ca urmare a glicuronoconjugării sale, proces prin care bilirubina devine hidrosolubilă. Procesul de glicuronoconjugare a bilirubinei este catalizat de bilirubin-glicuroniltransferaza localizată la nivelul microsomilor celulelor hepatice. Acidul glicuronic este donat de nucleotidul uridin-

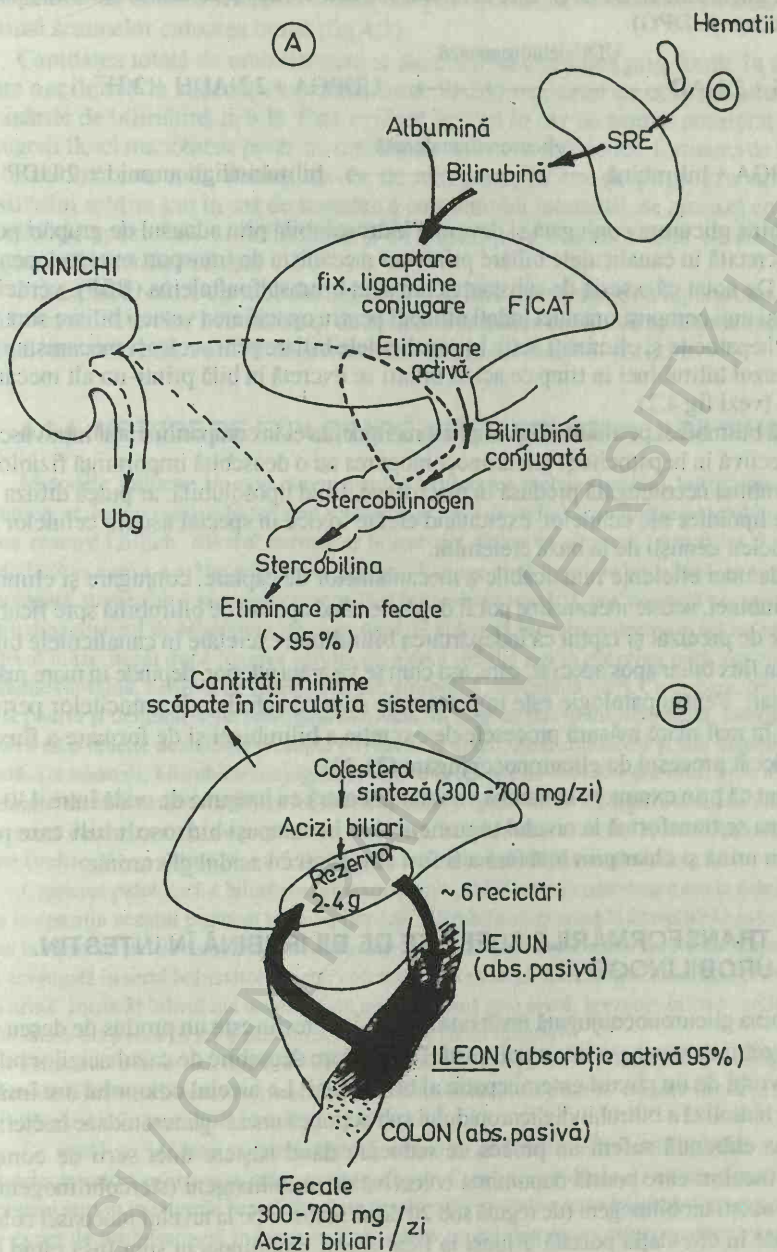
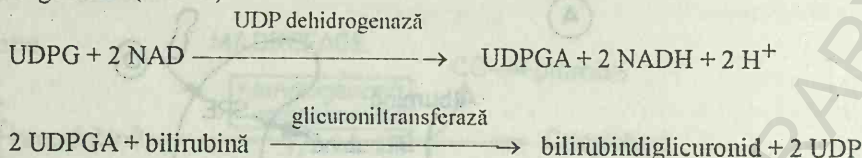


Fig.4.2. Comportarea diferită a pigmentilor biliari (A) și a acizilor biliari (B) în tractul digestiv. În timp ce pigmentii biliari constituie un produs de deșeu care se elimină prin fecale, acizii biliari reprezintă un capital prețios care se reabsoarbe în cea mai mare parte la nivelul ileonului. Pierderile fecale de acizi biliari sunt înlocuite prin sinteză din colesterol în ficat. Detalii în text.

difosfat acid glicuronic (UDPGA), care la rândul său este format prin dehidrogenarea uridin-difosfat-glucozei (UDPG).



Bilirubina glicuronoconjugată și devine hidrosolubilă prin adăugarea grupărilor polare este apoi excretată în canaliculele biliare printr-un mecanism de transport energodependent și saturabil. De notat că o serie de substanțe cum sunt bromsulfonfaleina (BSP), verdele de indocianină și unii compuși organici iodati utilizați pentru opacifierea vezicii biliare sunt captați de către hepatocite și eliminați activ în canaliculele biliare prin aceleași mecanisme care intervin în cazul bilirubinei în timp ce acizii biliari se excretă în bilă printr-un alt mecanism de transport (vezi fig. 4.2).

Fixarea bilirubinei pe albumină și implicit menținerea ei în compartimentul intravascular, captarea selectivă în hepatocite și glicuronoconjugarea au o deosebită importanță fiziologică întrucât bilirubina neconjugată produsă în macrofage, fiind liposolubilă, ar putea difuza prin membranele lipidice ale celulelor, exercitând efecte toxice în special asupra celulelor nervoase din nucleii cenușii de la baza creierului.

În ciuda unei eficiențe remarcabile a mecanismelor de captare, conjugare și eliminare în bilă a bilirubinei, aceste mecanisme pot fi depășite când aportul de bilirubină spre ficat este excesiv. Este de precizat și faptul că îndepărtarea bilirubinei excretate în canaliculele biliare depinde de un flux biliar adecvat, care, așa cum se va arăta ulterior, depinde în mare măsură de acizii biliari. Pentru patologie este important de știut că suferința hepatocitelor perturbă mai rapid și în mai mare măsură procesele de excreție a bilirubinei și de formare a fluxului biliar decât procesul de glicuronoconjugare (21,23).

De notat că prin expunere la lumină vizibilă (albastră cu lungime de undă între 430-470 nm) bilirubina se transformă la nivelul tegumentelor în compuși hidrosolubili care pot fi excretați prin urină și chiar prin bilă fără a fi fost conjugați cu acidul glicuronic.

4.1.3. TRANSFORMĂRILE SUFERITE DE BILIRUBINĂ ÎN INTESTIN. UROBILINOGENII

Bilirubina glicuronoconjugată revărsată cu bila în intestin este un produs de deșeu care nu este reabsorbit de mucoasa intestinală, astfel încât, spre deosebire de cazul acizilor biliari, nu se poate vorbi de un circuit enterohepatic al bilirubinei. La nivelul colonului are însă loc un proces de hidroliză a bilirubindiglicuronidului sub acțiunea unei β -glicuronidaze bacteriene, iar bilirubina eliberată suferă un proces de reducere dând naștere unei serii de compuși tetrapirolici incolori care poartă denumirea colectivă de urobilinogeni (stercobilinogeni). O fracțiune din acești urobilinogeni (de regulă sub 20%) se reabsoarbe la nivelul mucoasei colonului și pătrunde în circulația portală. Ajunși la ficat acești urobilinogeni sunt însă rapid captați și excretați în bilă printr-un proces activ energodependent. Doar mici cantități de urobilinogeni (0-4 mg/24 h) scapă în vena suprahepatică sau ajung în circulația sistemică prin plexurile venoase hemoroidale și sunt astfel eliminate prin urină. Cea mai mare parte a uro-

bilinogenilor se elimină însă prin fecale, iar prin oxidare se transformă în stercobilină care imprimă scaunelor culoarea brună (fig.4.2).

Cantitatea totală de urobilinogeni și stercobilină eliminată prin fecale în decurs de 24 de ore oscilează la subiecții normali între 50-280 mg, ceea ce corespunde în mare cu eliminările de bilirubină în bilă. Este evident însă că în caz de tranzit accelerat sau în urma distrugerii florei microbiene printr-un tratament susținut cu antibiotice, formarea de urobilinogen din bilirubină este mult diminuată. Pe de altă parte, în caz de populare microbiană a intestinului subțire sau în caz de stagnare a conținutului intestinal, se creează condiții pentru o producție sporită de urobilinogeni și de absorbție a acestora ceea ce duce implicit la creșterea eliminărilor urinare.

Principalele cauze ale urobilinogenuriei sunt însă reprezentate de hiperproducția de bilirubină în cursul icterelor hemolitice și de leziunile hepatice care limitează procesele de captare și eliminare prin bilă a urobilinogenilor reabsorbiți din intestin (21,23).

4.1.4. METODE DE EXPLORARE A METABOLISMULUI BILIRUBINEI

Metodele utilizate în mod curent pentru explorarea metabolismului bilirubinei sunt dozarea bilirubinei serice cu reactiv diazo (acid sulfanilic și nitrit de sodiu) și evidențierea urobilinogenului urinar cu reactiv Ehrlich. Nivelul normal al bilirubinei serice se situează între 0,3-1,0 mg/dl (5,1-17 μ mol/l). Așa cum s-a arătat anterior se pot însă distinge două tipuri de bilirubină, și anume bilirubina neconjugată, prehepatică sau premicrosomală și bilirubina conjugată, posthepatică sau postmicrosomală. Pentru diagnosticul de laborator este important de arătat că bilirubina neconjugată nu reacționează cu reactivul diazo decât după tratarea serului cu alcool metilic sau în prezența unor așa-zisi acceleratori de reacție (cofeină, benzoat de sodiu, salicilat, antipirină, acetamidă etc.). Ca urmare, bilirubina neconjugată poartă și denumirea de bilirubină indirectă, în timp ce bilirubina conjugată, hidrosolubilă și mai reactivă dă o reacție de culoare promptă cu reactivul diazo, fiind cunoscută și sub numele de bilirubină directă. La normali, bilirubina conjugată se află în proporție de abia 4% din bilirubina totală și de cele mai multe ori este nedetectabilă cu metodele uzuale. În practică se recurge la dozarea bilirubinei totale în prezența de metanol sau de acceleratori și la dozarea bilirubinei directe, iar valoarea bilirubinei neconjugate (indirectă) se obține prin diferența între bilirubina totală și cea directă.

Creșterea patologică a bilirubinei glicuronoconjugate în icterele colestatice sau în cele hepatocelulare duce la apariția acestui pigment în urină întrucât bilirubina conjugată hidrosolubilă este mai difuzibilă și mai labil fixată pe albuminele serice. De notat că acizii biliari tensioactivi care cresc împreună cu bilirubina conjugată în serul bolnavilor cu icter colestatic accentuează difuzibilitatea acestora și implicit excreția ei în urină. Întrucât bilirubina neconjugată nu se elimină prin urină, prezența bilirubinei în urină denotă întotdeauna creșterea în ser a bilirubinei conjugate (icter coluric).

Examenul de urină, respectiv evidențierea urobilinogenului, orientează și asupra modificărilor suferite de bilirubină în intestine, precum și asupra modului în care ficatul asigură captarea și îndepărtarea prin bilă a urobilinogenilor reabsorbiți.

La subiecții sănătoși, urobilinogenul urinar se află sub limita posibilităților de detectare cu metodele de rutină utilizate în laboratoarele clinice. Creșterile evidente ale eliminărilor urinare de urobilinogeni survin în icterele hemolitice care duc la o hiperproducție de bilirubină și implicit la formarea unui exces de urobilinogeni în intestin. Pozitivarea urobilinogenului urinar survine cu mare frecvență în diverse hepatopatii. De menționat că eliminările maxime de urobilinogen în urină se constată între orele 14-16, când după masa de prânz se produc revărsări de bilă în intestin și, implicit, producerea de urobilinogen din bilirubină. Nu trebuie uitat însă că eliminările urinare de urobilinogen și de bilirubină se reduc în caz de insuficiență renală. Caracteristică este însă dispariția urobilinogenului urinar în caz

de obstrucție completă a coledocului evoluând cu icter mecanic, scaune decolorate și eliminări urinare de bilirubină (4,6,21).

4.1.5. PARTICULARITĂȚI ALE METABOLISMULUI BILIRUBINEI LA NOU NĂSCUT. HIPERBILIRUBINEMIA NEONATALĂ

În cursul vieții intrauterine, bilirubina neconjugată formată în macrofagele organismului fetal se elimină prin transfer placentar de la făt la mamă. Acest transfer placentar compensează deficitul mecanismelor de captare, glicuronoconjugare și eliminare a bilirubinei, care constituie o caracteristică a organismului fetal. Întrucât chiar și în primele zile de la naștere, mecanismele amintite nu sunt pe deplin maturate, iar transferul placentar de bilirubină încetează brusc, se ajunge la așa-zisul "icter fiziologic al nou născutului". De fapt, concentrația bilirubinei neconjugate poate ajunge la valori de 4-5 mg/dl în primele 24 de ore de la naștere și uneori continuă să crească în următoarele 3-4 zile până la valori de 10 mg/dl (170 μ mol/l). Mecanismele care asigură procesul de clearance al bilirubinei se maturează apoi destul de rapid, astfel încât la aproximativ o lună de la naștere bilirubinemia se află doar cu puțin peste limita superioară a normalului la adult.

La noul născut prematur, hiperbilirubinemia neonatală este mai accentuată și mai prelungită. În unele cazuri, prelungirea icterului neonatal se datorează inhibării procesului de glicuronoconjugare a bilirubinei de către un steroid (pregnan-3 β -20 α -diol), prezent în laptele matern. Acest "icter la laptele de mamă" cedează însă prompt la introducerea alimentației artificiale sau prin schimbarea sursei laptelui de mamă. Efecte inhibitorii asupra glicuronil-transferazei s-au descris și în urma administrării de cloramfenicol, novobiocină sau a dozelor mari de vitamina K. O prelungire exagerată a icterului neonatal, neexplicată prin agenții amintiți poate atrage atenția asupra unei insuficiențe tiroidiene a copilului.

Cele mai accentuate creșteri ale bilirubinemiei survenite în perioada neonatală și care incumbă riscul de "icter nuclear" se constată însă în caz de hemoliză excesivă prin incompatibilitate de Rh sau la imaturi și cu atât mai mult la imaturii la care a survenit o hemoliză prin incompatibilitate de Rh. În astfel de cazuri se asociază o hiperproducție de bilirubină cu deficiența mecanismelor de îndepărtare din sânge a bilirubinei neconjugate, iar nivelul bilirubinemiei tinde să treacă de 20 mg/dl (340 μ mol/l). Întrucât astfel de valori ale bilirubinemiei incumbă riscul dezvoltării de leziuni ireversibile ale sistemului nervos central, afectând mai ales nucleii cenușii de la baza creierului și putând provoca și decesul, este obligatorie monitorizarea zilnică a bilirubinemiei, iar atunci când concentrația bilirubinei serice (indirecte) are tendință de creștere și ajunge la valori peste 16 mg/dl se impun măsuri terapeutice de urgență. Aceste măsuri includ exsanguinotransfuzia, combinată eventual cu infuzii intravenoase de albumină umană, care fixând bilirubina o reține în interiorul vaselor și îi limitează difuzarea în sistemul nervos. Întrucât așa cum s-a mai arătat expunerea la lumină favorizează transformarea bilirubinei în compuși care pot fi eliminați chiar și sub formă neconjugată, acest procedeu de expunere a nou-născutului cu hiperbilirubinemie la lumina puternică produsă de un arc voltaic s-a dovedit eficient în unele cazuri (21). Deși relativ rar întâlnit, deficitul genetic de glucozo-6-fosfat dehidrogenază poate duce la un icter neonatal sever, deoarece fenomenele de hemoliză cauzate de acest deficit se suprapun imaturității mecanismelor de captare și conjugare a bilirubinei (27).

4.2. SINDROMUL ICTERIC

Icterul poate fi definit ca o colorație anormală gălbuie a pielii și a scleroticelor, cauzată de o acumulare de bilirubină. De regulă, colorația icterică apare mai intens la nivelul scleroticelor, datorită bogăției acestora în elastină, care prezintă o afinitate deosebită pentru bilirubină. Se consideră că icterul devine vizibil atunci când bilirubinemia depășește 2-2.5 mg/dl (34-42,5 $\mu\text{mol/l}$) dar corelația între bilirubinemie și intensitatea icterului nu este strictă. Așa de exemplu creșterea bilirubinei conjugate produce un icter mai intens decât o aceeași concentrație serică de bilirubină neconjugată. Fenomenul se poate explica prin aceea că bilirubina conjugată hidrosolubilă și mai labil fixată pe albumină difuzează cu mai mare ușurință în lichidul interstițial (dar nu și în celule) și se fixează pe fibrele elastice din piele și sclero-

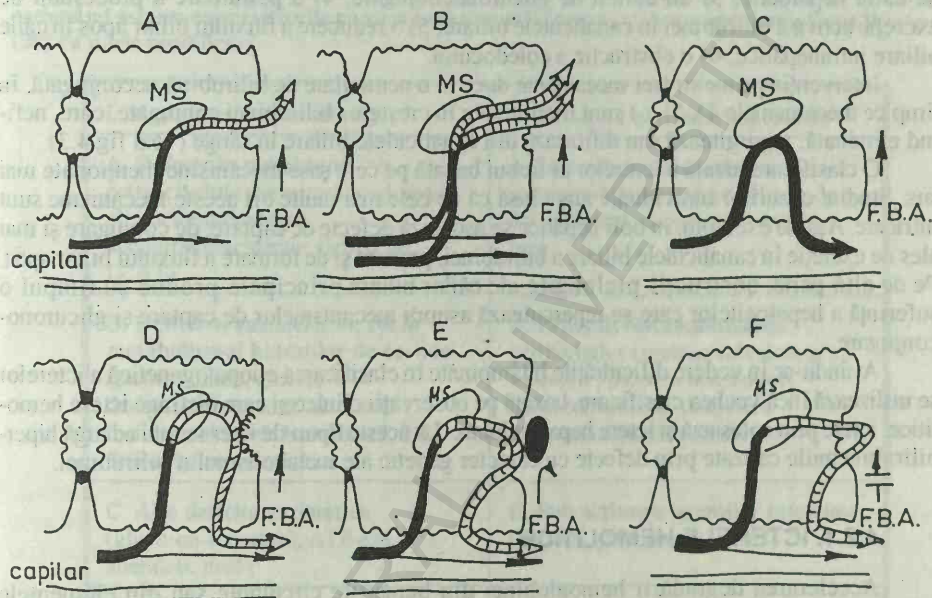


Fig.4.3. Mecanismele prin care se ajunge la creșterea bilirubinei neconjugate (săgeată plină) sau la creșterea bilirubinei conjugate (săgeată hașurată).

A. **Subiect normal:** cea mai mare parte a bilirubinei neconjugate (săgeată plină) ajunsă în ficat este captată, glicuronoconjugată la nivelul microsomilor (MS) și eliminată în bilă sub forma bilirubinei conjugate (săgeată hașurată), fiind apoi îndepărtată din canaliculele biliare sub acțiunea fluxului biliar apos (FBA).

B. **Icter hemolitic:** bilirubina neconjugată produsă în exces depășește capacitatea de captare și glicuronoconjugare a ficatului și crește în sânge. Întrucât aceste procese nu sunt deficitare ci doar depășite, se produc cantități sporite de bilirubină conjugată care ajunge în bilă fără a crește în sânge.

C. **Sindrom Crigler-Najjar:** deficitul de glicuronoconjugare face ca bilirubina neconjugată să se reîntoarcă în sânge, având drept urmare creșteri sanguine deosebit de exprimate ale acesteia.

D. **Sindromul Dubin-Johnson:** deficit în procesul de eliminare activă a bilirubinei conjugate care difuzează în sânge.

E. **Icter mecanic:** bilirubina conjugată ajunsă în canaliculele biliare nu poate fi eliminată din cauza obstacolului mecanic și refluxează în sânge.

F. **Colestază intrahepatică:** deficitul în formarea fluxului biliar apos (FBA) face ca bilirubina conjugată să refluxeze din canaliculele biliare în capilarele sanguine.

tice. O astfel de fixare este în măsură să explice și persistența colorației icterice și după ce nivelul bilirubinemic a revenit spre normal în cursul procesului de vindecare. Atunci când icterul mecanic are o evoluție prelungită, și în special în cazurile de obstrucție totală a coledocului printr-un proces malign, colorația tegumentelor poate deveni verzuie, datorită oxidării în piele a bilirubinei spre biliwerdină.

Pe de altă parte, în icterul hemolitic evoluând de regulă cu creșteri mai reduse ale bilirubinemiciei și asociat cu un anumit grad de anemie, colorația gălbuie apare pe fondul unei palori a tegumentelor.

Conform celor arătate cu privire la metabolismul bilirubinei, mecanismele care ar putea duce la apariția unei hiperbilirubinemii pot fi astfel sistematizate: 1) o producție excesivă de bilirubină cauzată de o hemoliză; 2) un defect de captare și fixare a bilirubinei neconjugate de către hepatocite; 3) un deficit de glicuronoconjugare; 4) o perturbare a procesului de excreție activă a bilirubinei în canaliculele biliare; 5) o reducere a fluxului biliar apos în căile biliare intrahepatice; 6) o obstrucție a coledocului.

Intervenția primelor trei mecanisme duce la o acumulare de bilirubină neconjugată. În timp ce mecanismele 4), 5), 6) sunt incriminate în creșterea bilirubinei conjugate, care, nefiind eliminată, regurgitează sau difuzează din canaliculele biliare în sânge (vezi fig.4.3).

O clasificare ideală a icterelor ar trebui bazată pe cele șase mecanisme menționate mai sus. Studiul cazurilor individuale arată însă că de cele mai multe ori aceste mecanisme sunt intricate. Așa de exemplu, în boli hepatice se asociază defecte de captare, de conjugare și mai ales de excreție în canaliculele biliare a bilirubinei, precum și de formare a fluxului biliar apos. Pe de altă parte, obstrucții prelungite ale căilor biliare principale produc cu timpul o suferință a hepatocitelor care se repercutează asupra mecanismelor de captare și glicuronoconjugare.

Avându-se în vedere dificultățile întâmpinate în clasificarea etiopatogenetică a icterelor se utilizează încă vechea clasificare, bazată pe observații clinice și care distinge ictere hemolitice, ictere prin colestază și ictere hepatocelulare. La aceste tipuri de icter se mai adaugă hiperbilirubinemiile cauzate prin defecte cu caracter genetic ale metabolismului bilirubinei.

4.2.1. ICTERELE HEMOLITICE

Accelerarea degradării hemoglobinei din hematiile circulante sau din elementele intramedulare ale eritronului poate depăși capacitatea ficatului de a capta, glicuronoconjuga și elimina prin bilă bilirubina produsă în exces. În astfel de cazuri, durata de viață a hematiilor poate scădea de la 120 de zile la 20 de zile, iar cantitatea de hemoglobină degradată zilnic crește de la 6,7 g la 40 g. Deși, ca urmare a acestui proces, producția de bilirubină crește de la 200-250 mg/zi la valori de peste 1500 mg, nivelul seric al bilirubinei rareori depășește concentrația de 2-3 mg/dl. Aceasta se datorează marii capacități a ficatului de a depura bilirubina neconjugată, iar atunci când un bolnav cu icter hemolitic prezintă o creștere a bilirubinei serice la valori de peste 5 mg/dl se poate bănui intervenția adițională a unei disfuncții hepatice.

Întrucât în cursul icterelor hemolitice crește în ser doar bilirubina neconjugată, urina este lipsită de pigmenți biliari (adică bilirubină). Pe de altă parte, eliminarea excesivă de bilirubină în intestin se însoțește de producerea unor mari cantități de urobilinogeni și respectiv stercobilină, astfel încât materiile fecale devin hipercolorate, iar urobilinogenul urinar se pozitivează. Organismul uman este dotat cu mecanisme care să prevină sau măcar să limiteze hemoglobinemia și hemoglobinuria cauzată de o hemoliză brutală, când se poate depăși capacitatea macrofagelor de a transforma hemoglobina în bilirubină. Așa de exemplu, hemoglobina

eliberată în plasmă se combină rapid cu anumite glicoproteine serice denumite haptoglobine. complexe formate neputând trece în filtratul glomerular și fiind apoi progresiv captate de macrofage. Dacă este depășită capacitatea de combinare a haptoglobinei, o parte din hemoglobina ajunsă în plasmă poate forma hem oxidat (methem), care se desprinde de pe globină și se cuplează cu hemopexina. La rândul lor complexe methem-hemopexină sunt apoi captate și metabolizate. Mecanismele mai sus menționate tind să prevină o precipitare a haptoglobinei în tubii uriniferi și limitează pierderile de fier pe cale urinară.

Tabel 4.1.

Clasificarea etiopatogenică a stărilor hemolitice, evoluând cu sau fără anemie și cu icter de intensitate variabilă. Cele cu caracter familial se datoresc de cele mai multe ori unor defecte ale eritrocitelor (cauze corpusculare), pe când cele dobândite sunt cauzate de anomalii extrinseci, acționând asupra unor eritrocite cu structură normală (cauze extracorpululare). După Wintrobe (29) cu unele modificări.

I. Moștenite (corpululare)	II. Câștigate (extracorpululare)
A. Defecte în membrana eritrocitului (sferocitoză ereditară, eliptocitoză ereditară, abetalipoproteinemie, deficit de LCAT)	A. Imunohemolitice (transfuzii incompatibile, incompatibilitate de Rh, anticorpi la cald, anticorpi la rece)
B. Deficit al enzimelor cu rol în metabolismul hidraților de carbon (piruvatkinază, glucozo-6-fosfatdehidrogenază, aldolază, fosfofructokinază, hexokinază, 2-3-difosfatgliceromutază)	B. Prin microtraumatizarea eritrocitelor (proteze valvulare și vasculare, purpură trombocică trombocitopenică, coagulare intravasculară diseminată)
C. Alte deficite enzimatice (glutacion-reductază, ATP-ază, adenilatkinază)	C. Sub acțiunea agenților infecțioși (bacterii, protozoare)
D. Deficit în structura și sinteza hemoglobinei (talasemii, hemoglobine patologice).	D. Sub acțiunea unor agenți fizici sau chimici (hipertermie, modificări de pH, sulfamide, PAS, anilină, nitrobenzen)

Clasificarea etiopatogenică a icterelor și respectiv a anemiilor hemolitice este redată în tabelul 4.1, iar pentru detalii se recomandă consultarea tratatelor de hematologie (29).

Diagnosticul de laborator al icterelor hemolitice se bazează pe trei categorii de modificări redade mai jos:

a. **Modificări cauzate de o distrucție accelerată a eritrocitelor.** În această categorie se includ reducerea duratei de viață a hematiilor, scăderea haptoglobinelor serice, creșterea bilirubinei serice și pozitivarea urobilinogenului urinar. iar uneori creșterea moderată a activității serice a lactatdehidrogenazei (LDH). Reamintim că în majoritatea cazurilor de anemie hemolitică, bilirubina serică nu depășește 3 mg/dl, iar în multe forme cronice de anemie hemolitică prin mecanism imun bilirubina se situează la limita superioară a normalului de 1 mg/dl (17

$\mu\text{moli/l}$) sau doar cu puțin peste această valoare. De notat că valori crescute ale fierului seric se întâlnesc în multe, dar nu în toate cazurile de anemie hemolitică.

De asemenea, creșterea relativ moderată a activității LDH survine doar în puseurile de deglobulinizare și nu atinge valorile din anemiile megaloblastice (vezi capitolul 3).

b. Modificări cauzate de accelerarea compensatorie a eritropoiezei. Caracteristică pentru un astfel de proces este creșterea reticulocitelor în sângele periferic, iar în condițiile unei stimulări deosebit de intense a măduvei la noul născut cu icter hemolitic se poate ajunge la apariția de eritroblaste în sângele periferic. Frotiurile de sânge medular evidențiază de regulă o hiperplazie eritroidă, dar în cazul unei carențe secundare de acid folic se poate ajunge la forme macrocitare sau chiar megalocitare (când și activitatea LDH este evident crescută). Explorarea ferocineticii (vezi cap. 6) evidențiază o accelerare a transportului plasmatic al fierului radioactiv (^{59}Fe) și o incorporare rapidă a acestuia în eritrocite.

c. Modificări specifice unor anumite tipuri de anemii hemolitice. Astfel de explorări permit stabilirea diagnosticului etiopatogenic diferențial. Așa de exemplu, simpla examinare a unui frotiu din sângele periferic poate depista prezența de sferocite, celule în seceră, schizocite, precum și o eventuală infestare cu protozoare. Detectarea unei fragilități osmotice constituie o caracteristică a sferocitozei, pe când creșterea rezistenței osmotice poate sugera o talasemie.

Examinări imunologice (test Coombs, anticorpi la rece) pot preciza natura imună a anemiei hemolitice, iar determinările de enzime eritrocitare sau de hemoglobine patologice sunt necesare pentru precizarea diagnosticului în unele anemii hemolitice cu caracter familial.

Atunci când creșterea bilirubinei neconjugată nu se asociază cu modificările mai sus menționate denotând hemoliza, iar testele hepatice sunt normale, se poate bănuî o anomalie genetică în metabolizarea bilirubinei.

4.2.2. ICTERELE COLESTATICE

Colestaza reprezintă o perturbare a mecanismelor care asigură curgerea bilei și poate surveni începând de la polul biliar al hepatocitelor și până la sfîcterul lui Oddi. Se distinge o colestază extrahepatică cauzată de îngustarea sau obstrucția căilor biliare extrahepatice, și o colestază intrahepatică, în a cărei patogeneză nu poate fi incriminat un obstacol mecanic pe căile biliare. Întrucât formarea fluxului biliar apos depinde în mare măsură de metabolismul acizilor biliari, patogeneza colestazei intrahepatice va putea fi mai bine înțeleasă după prezentarea datelor privind biochimia acestor detergenți biologici. De notat că, în timp ce nivelul seric al acizilor biliari crește în toate formele de colestază, creșterea bilirubinei poate fi doar schițată sau chiar absentă în fazele inițiale ale unei colestaze intrahepatice, accentuându-se pe măsură ce colestaza se agravează. Întrucât colestaza duce la o retenție de bilirubină conjugată, serul bolnavului dă o reacție diazo directă, iar urina este intens colorică. Gradul de creștere a bilirubinei directe este variabil, fiind minim în formele de debut ale unei colestaze intrahepatice și putând ajunge la valori de 15-30 mg/dl în icterele prelungite cauzate de procesele maligne ale regiunii ampulei lui Vater. Atunci când în astfel de cazuri (de exemplu neoplasm de cap de pancreas) se ajunge la o oprire completă a fluxului biliar, bilirubina nu mai ajunge în intestin și ca urmare nu se mai formează urobilinogeni și respectiv stercobilină. În consecință, materiile fecale vor fi decolorate iar urobilinogenul nu este detectabil în urină. Când însă obstrucția nu este totală sau are un caracter intermitent (de exemplu calculul inclavat în coledoc asociat cu spasm pe sfîncterul Oddi) culoarea scaunelor este variabilă, iar urobilinogenul poate fi adeseori detectat în urină.

Tabel 4.2.

Prezentare schematică a unor date de laborator utilizate în diagnosticul diferențial al icterelor

Tipul de icter	Comportarea pigmentilor biliari			Alte probe de laborator	Observații
	În sânge	În fecale	În urină		
Hemolitic	Crește bilirubina neconjugată	Hiperpigmentare	pigmenți (bilirubină) negativi; urobilinogen pozitiv	Aminotransferaze, fosfataza alcalină, γ -glutamyltransferaza normale; LDH variabil (vezi textul). Durata de viață a eritrocitelor scăzută. De regulă reticulocite crescute	Se fac explorări complementare imunologice (autoanticorpi) și hematologice (rezistența globulară, enzime eritrocitare, hemoglobine patologice)
Colestatic	Crește mai ales bilirubina conjugată	Decolorate în caz de obstrucție totală	pigmenți pozitivi; urobilinogen negativ în caz de obstrucție totală	Creșterea exprimată a fosfatazei alcaline și a γ -glutamyltransferazei; creșterea ac. biliari în sânge uneori apariția lipoproteinei X	Explorări imagistice pentru evidențierea căilor biliare și a aspectului ficatului
Hepatoce-lular	Crește atât bilirubina conjugată cât și cea neconjugată	Parțial decolorate în cazuri cu componentă cotestatică	pigmenți pozitivi; urobilinogen variabil (vezi textul)	Probe biologice modificate în funcție de forma clinică (vezi cap.5)	Apariția icterului la un hepatic poate reprezenta un indicu de gravitate. Se fac investigații pentru precizarea naturii hepatopatiei (alcoolică, virală, toxică etc.)

Natura colestatică a unui icter se evidențiază și prin creșterea marcată a activității serice a așa-ziselor enzime indicatoare ale colestazei (fosfatază alcalină, gamaglutamiltransferază, 5-nucleotidază, leucinaminopeptidază). Aminotransferazele (AST, ALT) pot crește moderat (2-4 ori limita superioară a normalului) atunci când obstrucția căilor biliare se produce brusc (colică biliară), pe când în cazul unei stenozări lente (neoplasm de cap de pancreas) aminotransferazele nu prezintă modificări semnificative. Pe de altă parte, o obstrucție de lungă durată duce la alterarea progresivă a parenchimului hepatic și la pozitivarea testelor care reflectă insuficiența hepatică (vezi capitolul 5).

O altă particularitate a icterelor colestatice și în special a colestazelor extrahepatice este reprezentată de creșterea colesterolului liber și a fosfolipidelor care, nemaiputând fi eliminate prin bilă se acumulează în plasmă și formează un complex denumit lipoproteina X (vezi capitolul 1). Atunci când creșterea bilirubinei conjugate nu se însoțește de creșteri ale acizilor biliari și ale enzimelor indicatoare de colestază, diagnosticul se îndepărtează de o posibilă colestază și trebuie orientat spre o anomalie cu caracter genetic în procesul de eliminare a bilirubinei în canaliculele biliare (4, 14, 21, 25).

4.2.3. ICTERELE HEPATOCELULARE

Sindromul icteric poate surveni într-o mare varietate de boli hepatice (hepatice acute virale, pusee evolutive ale unei hepatite cronice, hepatopatii alcoolice, ciroze hepatice), și de cele mai multe ori constituie un indiciu de gravitate. Leziunile hepatice afectează mai ales eliminarea bilirubinei conjugate și formarea fluxului biliar apos și reduc în mai mică măsură procesele de captare și glicuronoconjugare a bilirubinei produsă în macrofage. La aceste mecanisme se adaugă comprimarea canaliculelor biliare de către hepatocitele turgescențe și comprimarea ducturilor biliare din spațiile interlobulare ca urmare a edemului inflamator din interstițiu. Totodată, ca urmare a necrozei unor hepatocite se pot crea comunicări între capilarele sanguine și canaliculele biliare. Modificarea arhitecturii hepatice, cauzată de alternarea proceselor de necroză, scleroză și regenerare nodulară, caracteristice cirozelor, creează de asemenea condiții pentru regurgitarea bilei în capilarele sinusoidale.

Ansamblul acestor mecanisme face ca, în icterele hepatocelulare, să crească în sânge atât bilirubina neconjugată cât mai ales cea conjugată, iar în măsura în care crește nivelul seric al acesteia din urmă se ajunge la pozitivarea pigmentilor biliari (bilirubină) în urină. Totodată, datorită scăderii capacității funcționale a hepatocitelor, urobilinogenul absorbit din intestin nu mai este captat și eliminat prin bilă și astfel scapă în circulația sistemică și se elimină prin urină. O situație particulară este reprezentată de unele cazuri de hepatită acută evoluând cu pronunțate fenomene de colestază și scaune decolorate. În astfel de cazuri, bila nu mai ajunge în intestin și ca urmare nu se mai formează urobilinogeni. Dispariția urobilinogenului din urina acestor bolnavi denotă o agravare, iar reapariția urobilinogenului în urină coincide cu reluarea fluxului biliar și indică ameliorarea colestazei. Bineînțeles că restabilirea completă a funcțiilor hepatice duce la negativarea pigmentilor și urobilinogenului în urină. Precizarea naturii hepatocelulare a unui icter este facilitată de pozitivarea testelor de laborator care indică lezarea celulelor hepatice și reducerea funcționalității acestor celule (vezi capitolul 5). Testele utilizate în vederea diagnosticului diferențial al icterelor sunt prezentate succint în tabelul 4.2.

4.2.4. HIPERBILIRUBINEMII PRIN DEFECTE GENETICE ÎN METABOLISMUL BILIRUBINEI

Aceste anomalii survin relativ rar, dar au importanță teoretică, contribuind la descifrarea defectelor moleculare care duc la hiperbilirubinemie. Se disting anomalii evoluând cu creșterea bilirubinei neconjugate (sindromul Gilbert, sindromul Crigler-Najjar, sindromul Arias) și anomalii caracterizate prin creșterea bilirubinei conjugate (sindrom Dubin-Johnson, sindrom Rotor, sindromul stocării hepatice).

4.2.4.1. SINDROMUL GILBERT

Ca urmare a unei încetiniiri a glicuronoconjugării și a reducerii conținutului de ligandine din citosolul hepatocitelor, subiecții afectați prezintă o întârziere în procesul de îndepărtare din plasmă a bilirubinei neconjugate. Deși are un caracter familial, mecanismul de transmitere a anomaliei este neclar, iar icterul se evidențiază de regulă după vârsta de 20 de ani. Bilirubina indirectă este moderat crescută (de regulă sub 3 mg/dl) dar se accentuează după un post prelungit, febră sau infecții, efort excesiv sau consum de alcool. Nivelul crescut al bilirubinei neconjugate nu se însoțește de vreo acuză subiectivă, subiecții afectați fiind depistați la un examen de laborator determinat de observarea unei colorații subicterice. Recunoașterea anomaliei, care, prin caracterul său benign, nu necesită tratament, prezintă totuși și o importanță practică, contribuind la liniștirea subiecților afectați, care altfel ajung să fie obsedați că suferă de o hepatită cronică.

Este evident că înainte de a stabili diagnosticul de sindrom Gilbert, investigațiile de laborator trebuie să fie în măsură a exclude un icter hemolitic sau o suferință hepatică.

4.2.4.2. SINDROMUL CRIGLER-NAJJAR (TIP I ȘI TIP II)

Spre deosebire de sindromul Gilbert, sindromul Crigler-Najjar se caracterizează printr-o afectare severă a procesului de glicuronoconjugare, astfel încât nivelul seric al bilirubinei neconjugate poate atinge valori de 15-48 mg/dl (255-316 $\mu\text{mol/l}$) la homozigoți.

Intrucât bilirubina neconjugată liposolubilă poate pătrunde prin membranele lipidice ale celulelor, o astfel de hiperbilirubinemie duce la lezarea neuronilor din scoarța cerebrală, din cerebel și din nucleii cenușii de la baza creierului, realizând așa-zisul icter nuclear. O mare parte a nou-născuților homozigoți pentru această anomalie sucombă încă din primele 15 luni de viață. La cei care supraviețuiesc, nivelul bilirubinei se stabilizează la 15-25 mg/dl, iar manifestările neurologice capătă un caracter cronic, manifestându-se mai ales prin ataxie.

Defectul de glicuronoconjugare al homozigoților este atât de sever încât bila are o culoare deschisă și conține doar mici cantități de bilirubină neconjugată ajunsă în bilă prin difuziune, bila fiind lipsită de bilirubină conjugată. S-a constatat că deficitul de glicuronoconjugare interesează și alte substanțe cum sunt mentolul și salicilații, care în mod normal se elimină din organism prin glicuronoconjugare.

Deficitul de eliminare prin bilă a bilirubinei este doar parțial compensat prin alte mecanisme. Așa de exemplu, mici cantități de bilirubină neconjugată pot difuza prin mucoasa intestinală, pigmentul fiind apoi degradat în intestin spre compuși hidrosolubili diazo negativi. O altă alternativă de degradare a bilirubinei are loc în piele în urma expunerii la lumină. De altfel expunerea bolnavilor la o lumină puternică (arc voltaic) constituie la ora actuală principala mijloc prin care se poate încerca o reducere a bilirubinei la astfel de subiecți.

Tabel 4.3.

Particularități clinice și de laborator în anomaliile genetice evoluând cu creșterea bilirubinei neconjugate. În toate aceste cazuri pigmenții biliari nu apar în urină, acizii biliari și probele hepatice sunt în limitele normale, iar procesul de clearance al bilirubinei este deficitar

	Mod de transmitere și vârsta la care apare icterul	Nivelul bilirubinei neconjugate	Aspectul bilei	Activitatea de conjugare a bilirubinei	Răspuns la fenobarbital	Alte particularități
Sindrom Gilbert	Mod de transmitere- neclar; Apare de regulă după 20 de ani	1,2-6 mg/dl (20-102 mmoli/l)	Normal pigmentată; bilirubină conjugată prezentă	moderat scăzută	prezent	La deficitul moderat de glicuroconjugare se adaugă un deficit de ligandine. Nivelul bilirubinei crește după un post de 48 de ore
Sindrom Crigler-Najjar tip I (homozigoți)	Autosomal recesiv. Apare încă de la naștere	15-40 mg/dl De regulă peste 20 mg/dl (> 340 mmoli/l)	palidă, lipsită de bilirubină conjugată	absentă	absent	Duce la leziuni ale neuronilor (icter nuclear)
Sindrom Crigler-Najjar tip II (Sindrom Arias)	Autosomal dominant cu penetranță variabilă; apare de la naștere	6-20 mg/dl (102-340 mmoli/l)	normal pigmentată creșterea procentului de bilirubină mono-glicuronid	mult scăzută dar prezentă	prezent	Fără manifestări neurologice

Așa cum este de așteptat, heterozigoții au o capacitate de glicuronoconjugare de aproximativ 50% din valorile normale, care este însă suficientă pentru a preveni instalarea hiperbilirubinemiei (21).

Alături de această formă de sindrom Crigler-Najjar cu deficit sever de glicuronoconjugare și transmitere autosomal recesivă (Crigler-Najjar tip I) s-au descris și deficite familiale de glicuronoconjugare mai puțin exprimate având mecanism de transmitere autosomal dominant cu penetranță variabilă. În astfel de anomalii, cunoscute sub denumirea de sindrom Crigler-Najjar de tip II sau sindrom Arias, bilirubina neconjugată nu depășește 20 mg/dl iar fenomenele neurologice lipsesc. Bila este pigmentată și conține bilirubină conjugată. În fragmentele de țesut hepatic, activitatea bilirubinglicuroniltransferazei este mult redusă, dar nu complet absentă ca în cazul subiecților homozogoți cu sindrom Crigler-Najjar tip I. Administrarea de fenobarbital induce această enzimă la subiecții cu sindrom Crigler-Najjar tip II dar nu și la homozigoții cu sindrom Crigler-Najjar tip I (21).

Particularitățile anomaliilor cu caracter familial evoluând cu creșterea bilirubinei neconjugate sunt prezentate sintetic în tabelul 4.3.

4.2.4.3. ANOMALII GENETICE EVOLUÂND CU CREȘTEREA BILIRUBINEI CONJUGATE (SINDROMUL DUBIN-JOHNSON, SINDROMUL ROTOR, SINDROMUL STOCĂRII HEPATICE)

În toate sindroamele mai sus menționate, creșterea bilirubinei conjugate în ser se asociază cu apariția bilirubinei în urină (icter coluric), manifestările clinice sunt absente, iar nivelul seric al acizilor biliari și activitatea enzimelor indicatoare ale colestazei precum și testele uzuale de explorare a ficatului se află în limitele valorilor normale. Există însă o serie de particularități biochimice care diferențiază aceste sindroame.

Astfel, în **sindromul Dubin-Johnson**, nivelul seric al bilirubinei conjugate este de 2-5 mg/dl, putând crește uneori până la 15 mg/dl, iar subiecții afectați prezintă totodată un deficit de eliminare în bilă a diferiților "anioni colefilici", cum sunt compușii iodați utilizați pentru opacifierea căilor biliare (colecistografii și colangiografii negative). La testul cu bromsulfontaleină (BSP), retenția colorantului se află la limita superioară a normalului (de regulă < 15%) după 45 de minute de la injectarea de BSP, dar ulterior, după 90-120 minute, se constată o "reîntoarcere" a colorantului în plasmă sub formă de BSP glicuronoconjugat. S-a dedus că procesele de captare, glicuronoconjugare și captare hepatică a colorantului decurg normal, dar traversarea hepatică și mecanismul de eliminare pe cale biliară a BSP-ului glicuronoconjugat sunt perturbate. Ca urmare, are loc un reflux relativ tardiv în sânge al colorantului glicuronoconjugat și stocat în ficat dar neeliminat în bilă. Studiul sindromului Dubin-Johnson aduce astfel argumente pentru eliminarea în canaliculele biliare, prin același mecanism biologic energodependent, a bilirubinei conjugate, a BSP-ului conjugat și a compușilor iodați utilizați pentru opacifierea căilor biliare.

Deși nivelul plasmatic al acizilor biliari nu este anormal crescut, testele de încărcare cu acizi biliari (acid ursodeoxicolic) denotă o moderată reducere a proceselor de captare hepatică și de clearance a acestor anioni organici. Totodată administrarea de anticoncepționale orale steroidice care interferează cu economia acizilor biliari accentuează anomaliile mecanismelor care asigură traversarea hepatică și eliminarea în canaliculele biliare a bilirubinei conjugate, a BSP și a substanțelor iodate de contrast. S-ar părea că, deși compușii mai sus amintiți se elimină prin alt canal sau sistem de transport activ decât acizii biliari, există totuși interferențe funcționale între cele două sisteme de transport.

Tabel 4.4.

Particularități clinice și de laborator în anomalii genetice evoluând cu creșterea bilirubinei conjugate. În toate aceste cazuri pigmentii biliari apar în urină (icter coluric) iar probele hepatice uzuale, nivelul seric al acizilor biliari și enzimele indicatoare ale colestazei sunt în limite normale.

	Mod de transmitere	Nivelul bilirubinei	Colecistografia	Testul de BPS	Mecanism patogenic	Alte particularități
Sindrom Dubin-Johnson	autosomal recesiv	2-5 mg/dl (uneori până la 15 mg/dl) sub formă de diglicuronid	negativă	Retenție moderată (<15%) după 45 min.; creștere secundară la 120 min.	Defect de eliminare în bilă a bilirubinei conjugată și a altor anioni colefilici	Ficat încărcat cu un pigment de culoare închisă. Eliminarea prin urină a cuproporfirinei I (> 80% din totalul cuproporfirinelor urinare
Sindrom Rotor	autosomal recesiv	2-5 mg/dl (uneori până la 15 mg/dl) predomină monoglicuronidul	pozitivă	Retenție 25% după 45 min.; fără creșteri secundare	Predomină defectul de stocare	Ficat de aspect normal. Nu apar eliminări excesive de cuproporfirină I în urină
Sindromul deficitului de stocare hepatică	neclar	2-7 mg/dl; predomină monoglicuronidul	se vizualizează o întârziere de până la 20 de ore	Retenție de cca. 36% fără creștere secundară	Deficit sever de stocare a bilirubinei conjugate	Ficat de aspect normal. Eliminări de porfirină I neconcludente

O anomalie care poate fi mai greu conectată la modificările mai sus amintite constă din eliminarea prin urină a coproporfirinei I (la normali eliminându-se doar mici cantități de coproporfirină III). Aspectul laparoscopic al ficatului este destul de caracteristic, având o colorație brun-închisă sau chiar neagră, iar examenul histochimic evidențiază un pigment de culoare închisă localizat mai ales centrolobular și având afinitate pentru unii coloranți ai grăsimilor (Negru-Sudan, Oil-Red, dar nu și Sudan IV).

Sindromul Rotor evoluează cu creșteri ale bilirubinei directe la valori similare cu cele din sindromul Dubin-Johnson, dar diferă de acesta prin aspectul laparoscopic normal al ficatului, colangiografia pozitivă, procentul mai redus de coproporfirină I în urină, o retenție de BSP de peste 25% la 45 de minute de la injectare, creșterea secundară în ser la 90-120 minute lipsind însă la acești subiecți. Se consideră că, atât în acest sindrom, cât și în mai puțin bine definitul **sindrom al stocării hepatice**, ar exista nu atât un defect în faza finală de eliminare a bilirubinei conjugate și a BSP-ului cât mai ales un deficit al proceselor de stocare (21). În tabelul 4.4 sunt redate sinoptic principalele date referitoare la anomalii genetice evoluând cu creșterea bilirubinei conjugate.

4.3. ACIZII BILIARI (FIZIOPATOLOGIE BIOCHIMICĂ)

Din punct de vedere chimic acizii biliari pot fi definiți ca fiind acizi carboxilici conținând de regulă 24 de atomi de carbon și având o structură ciclopentanoperhidrofenantrenică (similă colesterolului din care derivă). Acizii biliari naturali sunt hidroxilați și diferă între ei în funcție de numărul și poziția grupărilor hidroxil (vezi fig.4.4).

Acizii biliari sintetizați în ficat pe seama colesterolului se numesc acizi biliari primari și sunt secretați cu bila în duoden sub formă conjugată, fie cu glicocolul, fie cu taurina. Ei sunt reprezentați de acidul colic trihidroxilat (acid 3α , 7α , 12α trihidroxi-5 β colanoic) și acidul chenodeoxicolic (acid 3α , 7α , dihidroxi-5 β colanoic). Sub acțiunea florei microbiene din intestin, o parte din acizii biliari primari suferă un proces de 7α dehidroxilare și se transformă în acizi biliari secundari, respectiv acid deoxicolic (acid 3α , 12α , dihidroxi-5 β colanoic), derivat din acidul colic, și acid litocolic (acid 3α , monohidroxi-5 β colanoic).

De notat că acizii biliari sunt cu atât mai hidrosolubili cu cât au mai multe grupări hidroxil (grupări polare), iar acidul litocolic monohidroxilat are tendința să precipite, și fixându-se pe resturile vegetale din intestin se elimină cu materiile fecale.

S-au descris și așa-zisii acizi biliari terțiari derivați prin transformarea la nivel hepatic a unor metaboliți ai acizilor biliari reabsorbiți din intestin. Așa este de exemplu acidul ursodeoxicolic, format prin reducerea în hepatocite a unui metabolit colanic, acidul 7α -ceiolitolic, care devine hidroxilat în pozițiile 3 și 7 fiind un stereoizomer al acidului chenodeoxicolic.

Este important de precizat de la bun început că spre deosebire de bilirubină care constituie un produs de deșeu și se elimină prin fecale, acizii biliari exercită importante funcții fiziologice în absorbția lipidelor și formarea fluxului biliar apos, fiind reabsorbiți din intestin în proporție de peste 95% (4,10,11,17).

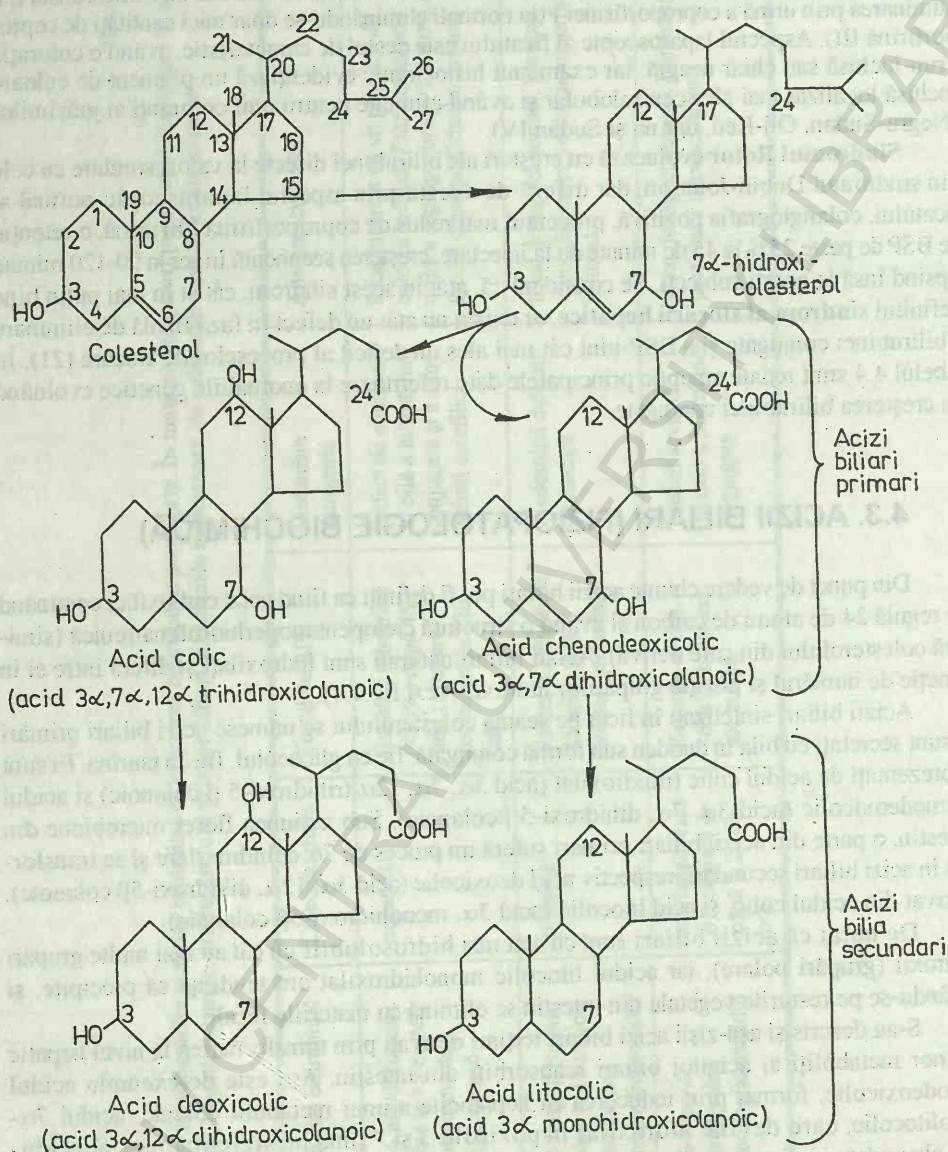


Fig.4.4. Structura acizilor biliari primari și secundari. Se poate vedea proveniența din colesterol a acizilor biliari. După o prealabilă hidroxilare în poziția 7, urmează o serie de reacții (nearătate în figură), în urma cărora 7 α hidroxilcolesterolul cu 27 atomi de carbon se transformă în acizi biliari cu 24 atomi de carbon. Această transformare implică hidroxilări ale nucleului ciclopentanofenantrenic și scutirea catenei laterale, care prin repetate oxidări pierde trei atomi de carbon și este carboxilată în poziția 24. Sub acțiunea florei microbiene din intestin se produce o dehidroxilare în poziția 7 și rezultă acizii biliari secundari.

4.3.1. SINTEZA ACIZILOR BILIARI

Sinteza celor 300-500 mg de acizi biliari primari produși zilnic în ficat pornește de la colesterol. Sursa de colesterol a hepatocitelor este reprezentată de resturile de chilomicroni și de lipoproteine plasmatice captate prin intermediul unor receptori specifici, precum și de colesterolul sintetizat în ficat pornind de la acetil coenzimă A pe calea controlată de HMG-CoA reductaza (vezi capitolul 1).

Etapa inițială a sintezei de acizi biliari implică hidroxilarea colesterolului în poziția 7 sub acțiunea 7α colesterol hidroxilazei microsomiale, iar 7α hidroxicoolesterolul rezultat adăunează H la dubla legătură și se transformă în produsul intermediar $3\alpha, 7\alpha$ dihidroxico-prostan. Tot la nivelul microsomilor o bună parte (aproximativ două treimi) a acestui produs se hidroxilează și în poziția 12, formând $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ trihidroxico-prostan.

În continuare la nivelul mitocondriilor au loc procese de oxidare ale lanțului lateral ce duc la scurtarea acestuia prin îndepărtarea carbonilor 27, 26 și 25 și la formarea radicalului carboxil la carbonul 24, rezultând astfel acidul colic și respectiv acidul chenodeoxicolic (în proporție de 2:1), prin conjugare cu glicocolul sau taurina se formează acizii glicocolic sau taurocolic, și respectiv acizii glicochenodeoxicolic și taurochenodeoxicolic (vezi fig.4.4).

Reglarea sintezei de acizi biliari se exercită în funcție de reabsorbția lor din intestin pe cale portală. Această reglare va fi mai bine înțeleasă după prezentarea datelor privind circuitul enterohepatic al acizilor biliari.

4.3.2. CIRCUITUL ENTEROHEPATIC AL ACIZILOR BILIARI

Deversarea în canaliculele biliare a acizilor biliari sintetizați în hepatocite se efectuează printr-un mecanism de transport activ independent de secreția bilirubinei. Ajunși în bilă, acizii biliari formează miceli (agregate coloidale) cu colesterolul și fosfolipidele, fiind deversați sub această formă în duoden.

La nivelul intestinului, acizii biliari tensioactivi facilitează emulsionarea și absorbția lipidelor și implică a vitaminelor liposolubile. În timp ce majoritatea lipidelor alimentare se absorb în jejun, reabsorbția acizilor biliari (sub formă conjugată, deconjugată și eventual parțial dehidroxilată) are loc la nivelul ileonului unde acționează un mecanism de transport activ selectiv și deosebit de eficient. Alături de acest mecanism specific din mucoasa ileonului mai intervine și un proces de absorbție pasivă nespecifică, mai puțin eficient, dar acționând pe întreaga suprafață a intestinului subțire și a celui gros (vezi fig.4.2). Ansamblul acestor mecanisme asigură o reabsorbție de 95-98% a acizilor biliari deversați în intestin.

Sub acțiunea florei microbiene din porțiunea terminală a ileonului și colonului, o porție variabilă de acizi biliari nereabsorbiți anterior sub formă conjugată suferă un proces de deconjugare, iar acizii biliari, desprinși din combinațiile cu glicocolul sau taurina pot fi dehidroxilați în poziția 7 sub acțiunea 7α -dehidroxilaze bacteriene. Acidul deoxicolic cu două grupări hidroxil se reabsoarbe împreună cu acidul colic din care provine, și cu acidul chenodeoxicolic, pe când acidul litocolic monohidroxilat, mai hidrofob, are tendința să precipite, fixându-se pe fibrele vegetale.

Se poate afirma deci că soarta acizilor biliari din intestin depinde de următorii principali factori:

- a. particularitățile și eficiența mecanismelor implicate în reabsorbție;
- b. efectele exercitate de flora microbiană;
- c. proprietățile fizico-chimice ale diversilor acizii biliari;
- d. proporția de resturi alimentare nedigerate;
- e. viteza tranzitului intestinal.

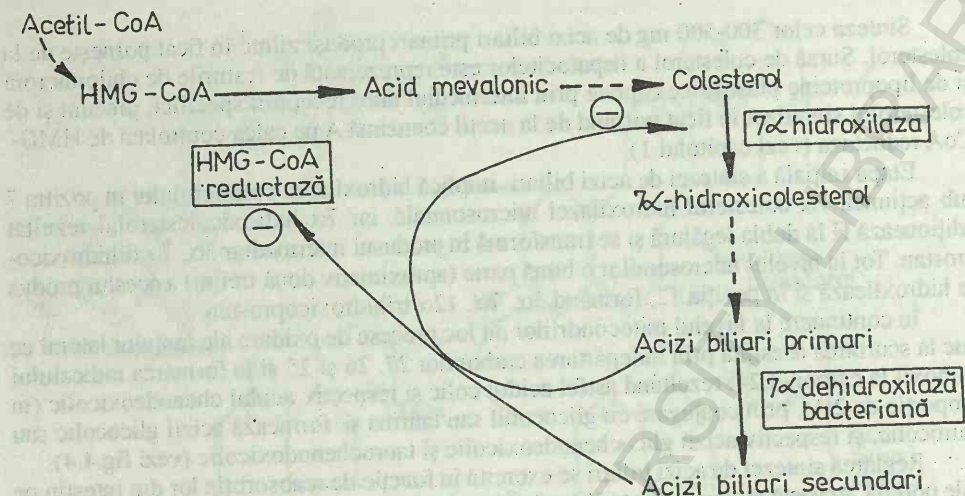


Fig.4.5. Reglarea sintezei de acizi biliari, cuplată cu reglarea sintezei de colesterol se efectuează prin efectul de represie, exercitat de acizii biliari primari și secundari reabsorbiți din intestin asupra enzimelor HMGCoA reductază și 7 α colesterolhidroxilază. Semnul \ominus indică represia enzimelor (feed-back negativ). De notat că acidul deoxicolic inhibă cu precădere sinteza acidului chenodeoxicolic.

Tabel 4.5.
Efectul diferitelor procedee experimentale asupra activităților HMG-CoA reductazei și 7 α colesterolhidroxilazei

	Administrazione de colestiramină sau drenaj biliar	Inaniție	Administrazione de colesterol	Administrazione de acizi biliari	Fenobarbital	Tomatina	Cortisol	Tiroxină
HMG-CoA reductaza	crește	scade	scade	scade	crește	crește	crește	crește lent
7 α colesterolhidroxilaza	crește	scade	crește	scade	crește	nemodificată	crește	crește rapid

Se poate deci considera că o alimentație mai bogată în resturi vegetale nedigerate, un tranzit intestinal accelerat și o populație microbiană a intestinului subțire vor reduce reabsorbția acizilor biliari. Oricum, chiar și în cazul unei reabsorbții optime din intestin, o cantitate de 300-700 mg acizii biliari se elimină zilnic prin fecale, această cantitate fiind înlocuită prin sinteză hepatică.

Ajunși în circulația portală, acizii biliari reabsorbiți din intestin sunt rapid captați de ficat, astfel încât doar cantități infime scapă prin venele suprahepatice în circulația sistemică. Eficiența captării hepatice a acizilor biliari se datorează unor receptori membranari specifici, cu afinitate mai mare pentru acizii biliari trihidroxilați și conjugați (respectiv acizii taurocolic și glicocolic) și o afinitate mai redusă față de acizii dihidroxilați și neconjugați (1,8,26). Acizii biliari captați în hepatocite sunt apoi deversați în canaliculele biliare, împreună cu cei nou sintetizați în ficat, prin mecanismul de transport activ amintit la începutul acestui subcapitol. Totodată, acizii biliari reabsorbiți din intestin și captați în ficat reglează printr-un mecanism de feed-back negativ sinteza hepatică a acestor detergenți biologici (10,11,12,17).

4.3.3. REGLAREA SINTEZEI DE ACIZI BILIARI

Accentuarea pierderilor de acizi biliari (drenaj biliar, tranzit accelerat, administrarea de colestiramină) stimulează sinteza hepatică a acestor detergenți biologici, în timp ce inaniția și implicit reducerea secreției biliare și a motilității intestinale se însoțesc de o scădere a sintezei de acizi biliari.

De fapt acizii biliari reabsorbiți din intestin reprimă enzimele cheie cu rol în producerea de acizi biliari primari în ficat, iar reducerea întoarcerii acizilor biliari pe cale portală duce la dereprimarea acestor enzime cheie, respectiv HMGCoA reductaza și 7α colesterol hidroxilaza. Sinteza acestor enzime și implicit accelerarea producției de acizi biliari este stimulată și pe cale hormonală de către hormonii tiroidieni și de către cortizol. Inductibilitatea celor două enzime mai sus amintite este demonstrată și prin creșterea activității lor după administrarea de fenobarbital, un binecunoscut agent inductor (vezi capitolul 3). În anumite condiții se poate realiza însă o disociere între activitățile celor două enzime (17). Așa de exemplu, administrarea alimentară de colesterol scade activitatea HMGCoA reductazei și crește activitatea 7α colesterol hidroxilazei, pe când ingestia de tomatină, un glicozid steroidic care inhibă absorbția de colesterol, dar nu și pe cea de acizi biliari are ca efect creșterea activității HMGCoA reductazei, dar nu influențează activitatea 7α colesterol hidroxilazei (vezi tabel 4.5, și fig.4.5).

4.3.4. ASPECTE CANTITATIVE ALE CIRCULAȚIEI ENTEROHEPATICE A ACIZILOR BILIARI. (NOȚIUNILE DE SECREȚIE, SINTEZĂ ȘI REZERVOR DE ACIZI BILIARI)

Rezervorul de acizi biliari poate fi definit ca fiind cantitatea de acizi biliari aflați în circulația enterohepatică (ficat, căi biliare, intestin și circulația portală). Acest rezervor (sau capital) de acizi biliari poate fi evaluat prin metoda diluției izotopice, administrându-se ^{14}C -acid glicocolic sau ^3H acid chenodeoxicolic și determinându-se apoi raportul dintre acizii biliari radioactivi și cei neradioactivi, raport care variază invers proporțional cu mărimea rezervorului de acizi biliari. Acest rezervor oscilează la subiecții normali între 2000-4000 mg și este circulat de mai multe ori în cursul zilei.

Numărul de cicluri enterohepatice pe 24 de ore coincide cu frecvența golirii veziculei biliare și implicit a reabsorbției acizilor biliari deversați în intestin. Întrucât cu prilejul fiecărui act alimentar

rezervorul biliar este recirculat de două ori, se consideră că în condițiile unui regim cu trei mese principale pe zi, se ajunge la 6 cicluri enterohepatice pe 24 de ore.

Secreția de acizi biliari reprezintă cantitatea totală de acizi biliari care trece prin canalul coledoc în decurs de 24 de ore. În condiții de echilibru secreția zilnică de acizi biliari este egală cu produsul între valoarea rezervorului de acizi biliari și numărul de cicluri enterohepatice. De exemplu, în cazul unui rezervor de 3000 mg circulat de 6 ori (în cursul a trei mese principale), secreția de acizi biliari va fi $3000 \times 6 = 18.000$ mg.

Sinteza de acizi biliari reprezintă doar o fracțiune a secreției, fiind menită să înlocuiască pierderile prin fecale. Valoarea numerică a sintezei este de 300-700 mg/zi și reprezintă 15-20% din capitalul de acizi biliari, respectiv 2,5-3,5% din secreția zilnică de acizi biliari.

4.3.5. ROLUL FIZIOLOGIC AL ACIZILOR BILIARI

Acizii biliari joacă un rol esențial în formarea fluxului biliar apos, intervin în absorbția lipidelor, precum și în metabolismul lipidic și exercită efecte asupra funcției colonului. Grație structurii lor care asigură prezența de grupări polare (hidroxil și carboxil) într-un plan și grupări lipofile (CH_3 , CH_2) în alt plan acizii biliari se comportă ca niște detergenți, putând forma complexe solubile micelare cu diverși compuși care în lipsa acizilor biliari ar fi insolubili în apă (de exemplu trigliceride și colesterol).

4.3.5.1. ACIZII BILIARI ȘI FLUXUL BILIAR APOS

Menținerea în suspensie a diferiților compuși eliminați prin bilă și asigurarea curgerii bilei prin arborele biliar este condiționată de formarea unui flux biliar apos. Deplasarea apei din capilarele sanguine spre canaliculele biliare se face independent de gradientul presiunii hidrostatice, astfel încât bila continuă să se formeze și să curgă prin canaliculele biliare chiar și atunci când presiunea hidrostatică din ducturile biliare este mai mare decât cea din capilarele sinusoide. De fapt, fluxul biliar apos se formează mai ales prin atragerea apei în canaliculele biliare pe baza unui gradient osmotic, respectiv de către o presiune osmotică mai ridicată în canaliculele biliare. Avându-se în vedere corelația strictă între secreția de acizi biliari și volumul secreției biliare, se poate vorbi de un **flux biliar dependent de acizii biliari**.

Întrucât miceliile formate de acizii biliari cu fosfolipidele și cu colesterolul variază ca dimensiuni între 11.000 și 75.000 daltoni, este evident că presiunea osmotică va fi mai mare atunci când în canaliculele biliare se formează micelii de dimensiuni mai reduse dar în număr mai mare. Reamintim că presiunea osmotică depinde de numărul de particule din soluție. În acest fel acizii biliari, în special cei dotați cu mai multe grupări polare (mai hidrofilati), aflați în bilă într-o concentrație optimă vor forma micelii de dimensiuni mai reduse și implicit mai numeroase, ceea ce asigură un gradient osmotic adecvat formării fluxului biliar apos.

În urma depleției rezervorului de acizi biliari curgerea bilei diminuează dar nu încetează cu desăvârșire. Acest fenomen sugerează existența unei **fracțiuni a fluxului biliar independentă de acizii biliari**, care în astfel de condiții, este în mare parte asigurat de un transport activ de sodiu în canaliculele biliare. Ca și în alte țesuturi transportul de sodiu este activat de ATPaza Na/K dependentă, iar administrarea de bicarbonat de sodiu crește fluxul biliar apos (vezi fig.4.6).

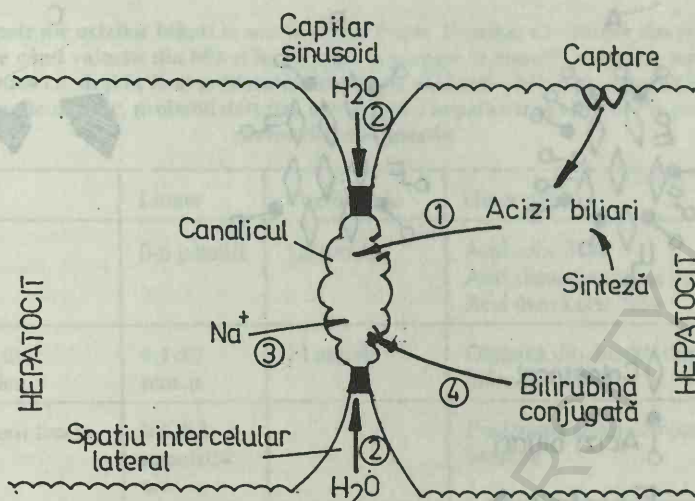


Fig.4.6. Mecanisme de formare a fluxului biliar apos:

- 1) Acizii biliari captați de hepatocite din circulația portală sau sintetizați în ficat se secretă activ în canaliculele biliare.
- 2) Printr-un efect osmotic se atrage apa în canalicule asigurând un flux biliar apos dependent de acizii biliari.
- 3) Un mecanism independent de acizii biliari se realizează prin transportul activ de sodiu în canaliculele biliare, care atrage apa prin același efect osmotic.
- 4) Bilirubina conjugată, BSP și substanțele iodate de contrast se elimină în canalicule prin alt mecanism de transport, iar fluxul biliar apos asigură "spălarea" lor din canaliculele biliare și curgerea bilei.

Intrucât secreția biliară este stimulată de teofilină, un inhibitor al fosfodiesterazei, se consideră că acumularea intracelulară de AMP ciclic ar constitui un stimul pentru formarea fluxului biliar apos. S-a mai arătat că administrarea de fenobarbital, un agent inductor al oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte (vezi capitolul 3), produce o creștere a secreției biliare, probabil prin favorizarea procesului de hidroxilare a acizilor biliari în microsomi (14,15).

4.3.5.2. ACIZII BILIARI ȘI METABOLISMUL LIPIDIC

Metabolismul acizilor biliari interferează cu cel al lipidelor sub mai multe aspecte:

1. Acizii biliari facilitează emulsionarea trigliceridelor și potențează hidroliza acestora sub acțiunea lipazei pancreatice.
2. Acizii biliari formează miceli și cu produșii de lipoliză pe care îi mențin în soluția apoasă. La nivelul suprafeței microvilozitare a celulelor epiteliale ale jejunului produșii de lipoliză și diverși lipoizi se absorb iar acizii biliari desfăcuți din miceli se reabsorb la nivelul ileonului.
3. În timp ce o parte a produșilor de lipoliză a trigliceridelor se poate absorbi și în lipsa acizilor biliari, absorbția vitaminelor liposolubile și a colesterolului nu poate avea loc dacă nu se formează miceli cu acizii biliari.
4. Acizii biliari reprezintă principala cale de eliminare a colesterolului din organism.

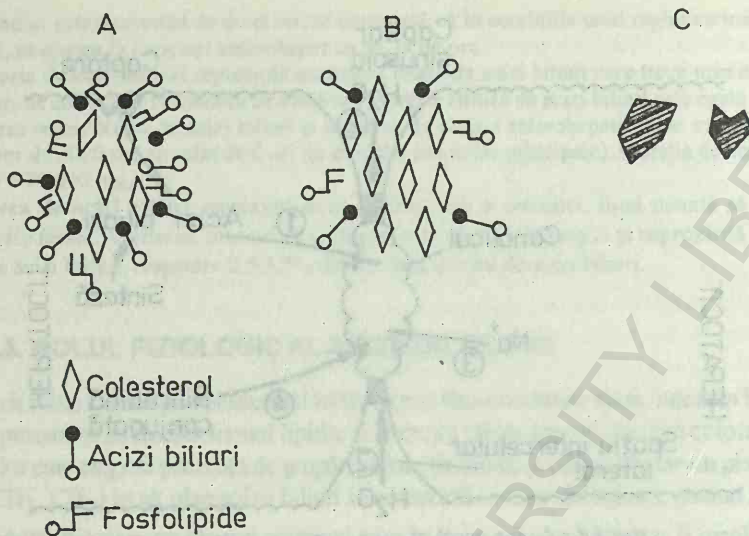


Fig.4.7. Structura miceliilor din bilă. A) Colesterolul, având o solubilitate redusă în mediu apos, este menținut în soluție grație unui strat protector de acizi biliari și fosfolipide, dotate cu grupări polare; B) În cazul unei creșteri a proporției de colesterol față de acizii biliari și de fosfolipide, stabilitatea miceliilor scade, astfel încât C) colesterolul precipită sub formă de cristale și duce la formarea calculilor biliari.

5. Acizii biliari reabsorbiți exercită un efect de feed-back negativ asupra propriei lor sinteze pe seama colesterolului. Din acest motiv, creșterea eliminărilor fecale de acizi biliari (resturi vegetale, colestiramină, tranzit intestinal accelerat) sau drenajul biliar reduce efectul mai sus amintit și accelerează transformarea colesterolului în acizi biliari, având acțiune hipocolesterolemiantă (vezi și capitolul 1).

6. Acizii biliari mențin în soluția micelară colesterolul din bilă prevenind precipitarea acestuia și formarea de calculi biliari (vezi fig.4.7).

4.3.5.3. EFECTE ASUPRA FUNCȚIEI COLONULUI

Acizii biliari limitează reabsorbția apei și a electroliților la nivelul mucoasei colonului, putând fi astfel considerați ca adevărați laxativi fiziologici. Pe de altă parte, în cazul unei reabsorbții reduse la nivelul ileonului, excesul de acizi biliari ajunși în colon, și în special formele deconjugate și dehidroxilate exercită un efect iritant asupra mucoasei intestinului gros precum și secreția de apă și electroliți la acest nivel, determinând o diaree apoasă (10,17).

4.4. ACIZII BILIARI ÎN PATOLOGIE

Principalele anomalii în economia acizilor biliari cu repercusiuni în patologie pot fi clasificate în două mari categorii:

1) Anomalii caracterizate prin deficitul absolut sau relativ de acizi biliari:

Tabel 4.6.

Valori normale ale acizilor biliari în ser, în bilă și fecale. De notat că valorile din ser sunt date în $\mu\text{moli/l}$, pe când valorile din bilă și fecale sunt exprimate în mmoli/l respectiv mmoli/24h . Se mai poate vedea că, deși în ficat predomină sinteza de acid colic, în ser predomină concentrația de acid chenodeoxicolic, probabil datorită unei captări hepatice mai eficiente a acidului colic reabsorbit din intestin.

	Limite	Valori medii	Observații
Ser	0-6 $\mu\text{moli/l}$	1,6 $\mu\text{moli/l}$	Acid colic 35% Acid chenodeoxicolic 43% Acid deoxicolic 22%
Bilă din duoden	4,1-30 mmoli	14 mmoli	Obținută din duoden după un prânz de probă
Materii fecale	0,6-1,3 mmoli/24 ore	-	Predomină acizii deoxicolic și litocolic

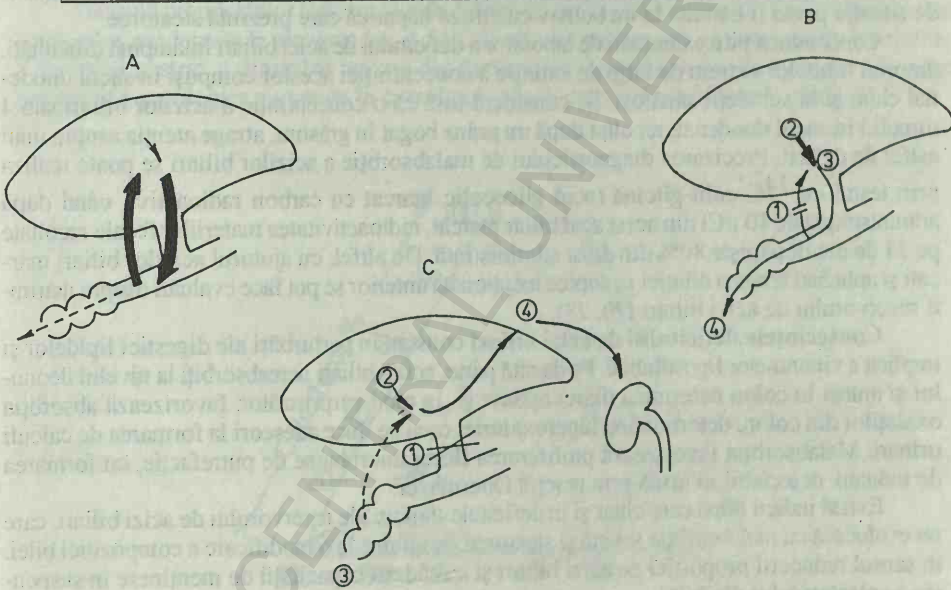


Fig. 4.8. Reprezentarea schematică a unor anomalii în economia acizilor biliari:

A. Circuit enterohepatic normal (vezi fig. 4.2);

B. Perturbarea reabsorbției intestinale a acizilor biliari - 1; are drept urmare o accelerare a sintezei lor în ficat - 2; care nu poate însă compensa pierderile masive și prelungite, și implicit nu poate preveni scăderea capitalului de acizi biliari - 3; ca urmare survine steatoreea, iar acizii biliari neabsorbiți în ileon și ajunși în colon determină o diaree apoasă - 4.

C. În caz de colestază, curgerea bilei în intestin este mult limitată - 1; dereprimându-se sinteza - 2; perturbarea digestiei și absorbției lipidelor duce la steatoree - 3; iar acizii biliari produși în ficat și nesecretați în bilă trec în sânge - 4; și se elimină prin urină.

2) Efecte toxice exercitate de acizii biliari aflați "la locul nepotrivit", adică în afara circuitului enterohepatic. În tabelul 4.6. sunt redate valorile concentrațiilor de acizi biliari în ser, bilă și fecale la subiecții normali, iar în figura 4.8 se prezintă principalele anomalii survenite în economia acizilor biliari.

4.4.1. DEFICITUL DE ACIZI BILIARI

Scăderea rezervorului de acizi biliari poate surveni fie în caz de perturbare severă a reabsorbției lor din intestin, fie ca urmare a unei alterări severe a sintezei lor în ficat.

Deperdiția de acizi biliari prin fecale se exagerează în boli ale ileonului însoțite de atrofia mucoasei, în caz de populare microbiană a intestinului subțire și, bineînțeles, în rezecțiile de ileon. Fistulele biliare și administrarea prelungită a sechestranților acizilor biliari (colestiramină, colestipol) pot duce de asemenea la diminuarea rezervorului de acizi biliari. Toate aceste mecanisme sunt parțial compensate de o accentuare a sintezei hepatice de acizi biliari, care poate fi însă depășită în cazul unor pierderi importante și persistente.

Având în vedere că ficatul este unicul organ care sintetizează acizi biliari, apare firesc ca în caz de **insuficiență hepatică cronică** să se ajungă la o depleție de acizi biliari. O astfel de situație poate fi bănuită la un bolnav cu ciroză hepatică care prezintă steatoree.

Confirmarea prin examinări de laborator a deficitului de acizi biliari întâmpină dificultăți, datorită limitelor extrem de largi de variație a concentrației acestor compuși în suc duodenal chiar și la subiecții sănătoși. Se consideră însă că o concentrație a acizilor biliari sub 4 mmoli/l în suc duodenal, recoltat după un prânz bogat în grăsimi, atrage atenția asupra unui astfel de deficit. Precizarea diagnosticului de malabsorbție a acizilor biliari se poate realiza prin testul cu ^{14}C colil-glicină (acid glicolic marcat cu carbon radioactiv), când după administrarea de 10 μCi din acest acid biliar marcat, radioactivitatea materiilor fecale recoltate pe 24 de ore depășește 80% din doza administrată. De altfel, cu ajutorul acizilor biliari marcați și aplicând tehnica diluției izotopice menționată anterior se pot face evaluări asupra mărimii rezervorului de acizi biliari (20, 28).

Consecințele deficitului de acizi biliari constau în perturbări ale digestiei lipidelor și implicit a vitaminelor liposolubile. Pe de altă parte, acizii biliari nereabsorbiți la nivelul ileonului și ajunși în colon determină diaree apoasă și, în mod surprinzător, favorizează absorbția oxalaților din colon, determinând hiperoxalurie, ceea ce duce adeseori la formarea de calculi urinari. Malabsorbția favorizează proliferarea florei microbiene de putrefacție, cu formarea de indican, detectabil în urină prin reacția Obermayer.

Există indicii după care chiar și în deficitele minore ale rezervorului de acizi biliari, care nu evoluează cu malabsorbție severă și steatoree, se ajunge la o modificare a compoziției bilei, în sensul reducerii proporției de acizi biliari și a scăderii capacității de menținere în suspensie a colesterolului din bilă.

4.4.2. ACIZII BILIARI ȘI LITIAZA BILIARĂ

Așa cum s-a arătat mai sus, colesterolul din bilă este menținut în soluție prin formarea de miceli cu acizii biliari și fosfolipidele. Scăderea proporției de acizi biliari și/sau fosfolipide precum și creșterea proporției de colesterol din bilă favorizează precipitarea acestuia sub formă de cristale și joacă un rol important în patogeniza litiazei biliare. Acest concept este ilustrat de modelul triunghiular conceput de Admirand și Small (93) care permite evaluarea tendinței de formare a calculozei colesteroice (vezi fig.4.9).

Studii clinice au arătat că de fapt bila pacienților cu litiază biliară este suprasaturată cu colesterol, față de un conținut relativ mai redus de acizi biliari, iar studii cu acizi biliari marcați au demonstrat că rezervorul de acizi biliari al acestor bolnavi este mai redus. S-a mai observat că incidența litiazei biliare este evident mai crescută la bolnavii cu disfuncții ale ileonului, la care pierderile cronice de acizi biliari prin scaun duc cu timpul la scăderea capitalului de acizi biliari. S-ar părea deci că reducerea capitalului de acizi biliari duce la dezvoltarea unei bile litogene, suprasaturată în colesterol. Această ipoteză și-a găsit confirmarea în practica clinică, dovedindu-se că administrările de acid chenodeoxicolic (Chenofalk) în doze de 0,75-1,5 g/zi și mărirea consecutivă a rezervorului de acizi biliari duce la dizolvarea calculilor biliari, în special a celor de dimensiuni mai reduse și necalcificați.

Dezechilibrul între colesterolul și acizii biliari din bilă nu constituie însă singurul factor implicat în patogeneza litiazei biliare, iar obezitatea, sexul feminin, hipotonia vezicii biliare și procesele inflamatorii ale căilor biliare reprezintă importanți factori de risc pentru dezvoltarea acestei boli (99,22).

4.4.3. TOXICITATEA ACIZILOR BILIARI

Datorită proprietăților tensioactive de detergenți, acizii biliari exercită efecte toxice asupra țesuturilor neadaptate la prezența lor. Acizii biliari sunt incriminați în patogeneza gastritelor, a ulcerului gastric, a diareilor apoase din disfuncția ileonului, a pancreatitelor și a unor manifestări patologice survenite în cursul colestazei, cum ar fi de exemplu pruritul.

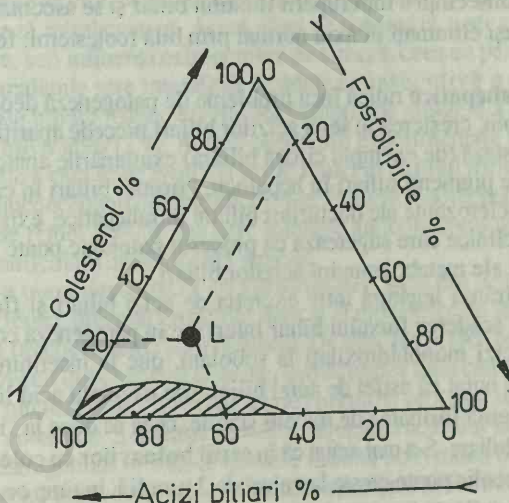


Fig.4.9. Diagramă triunghiulară utilizată pentru reprezentarea proporțiilor de acizi biliari, colesterol și fosfolipide în bilă. Concentrația fiecărui component (în mmoli/l) este exprimată ca un procent din total (Total - mmoli/l acizi biliari + mmoli/l colesterol + mmoli/l fosfolipide). Zona hașurată de la baza triunghiului echilateral reprezintă proporții ale amestecului în care colesterolul este menținut într-o soluție micelară clară. Punctul L obținut în condițiile unor concentrații procentuale de 20% colesterol, 20% fosfolipide și 60% acizi biliari cade în afara zonei proporțiilor optime. Într-o astfel de bilă litogenă, colesterolul are tendința de a ieși din soluție, formând cristale și favorizând apariția calculilor biliari (după Admirand și Small).

O mențiune specială ar trebui acordată rolului acizilor biliari în patogeneza bolilor pancreasului. De fapt injectarea experimentală de acizi biliari în țesutul pancreatic sau instalarea lor în ductul pancreatic reproduce leziuni ale celulelor acinoase similare celor din pancreatita acută iar în cursul pancreatitelor acute de origine biliară se constată o creștere tranzitorie a acizilor biliari în sânge (7). Se poate deci sugera că la astfel de bolnavi prezentând calculi biliari, stricturi coledociene sau spasme ale sfincterului Oddi se produce o creștere a presiunii în căile biliare și o refluxare de bilă în ductul pancreatic (mai ales în cazurile prezentând o ampulă comună biliopancreatică). Se ajunge astfel la o lezare a acinilor pancreatice, sub acțiunea acizilor biliari tensioactivi, și la o activare a fosfolipazei A_2 și a lipazei pancreatice, având drept consecință o dezorganizare a membranelor celulare, o lipoliză a țesutului adipos peripancreatic și o edemație a pancreasului. Dacă leziunile sunt deosebit de severe se ajunge la activarea proteazelor cu autodigestia organului și dezvoltarea pancreatitei necrotico-hemoragice. Pe de altă parte, un nivel persistent crescut al acizilor biliari în sânge, așa cum survine în ciroza biliară, ar putea contribui la instalarea fibrozei pancreatice (5,16).

4.4.4. ACIZII BILIARI ȘI COLESTAZA

Orice colestază evoluează cu creșterea nivelului seric al acizilor biliari de la valorile normale de 0-6 $\mu\text{mol/l}$ până la concentrații de peste 100 $\mu\text{mol/l}$.

În colestazele extrahepatice cauzate de o obstrucție mecanică a coledocului, creșterea acizilor biliari este o consecință a întreruperii fluxului biliar și se asociază de la bun început cu retenția altor compuși eliminați în mod normal prin bilă (colesterol, fosfolipide, bilirubina conjugată).

Colestazele intrahepatice ridică încă probleme de patogeneză deosebit de complexe, iar în primele de debut, creșterea în ser a acizilor biliari precede apariția icterului. Deși în stadii avansate de colestază (de exemplu ciroza biliară) examinările anatomopatologice evidențiază acumularea de pigmenți biliari în hepatocit, "trombi biliari în canalicule", precum și leziuni inflamatorii sclerozante ale ducturilor biliare intrahepatice, există o serie de observații experimentale și clinice care sugerează că procesul patologic poate fi inițiat tocmai de către anumite anomalii ale metabolismului acizilor biliari.

1) Se cunoaște strânsa legătură între excreția de acizi biliari și fluxul biliar apos în canaliculele biliare, iar scăderea fluxului biliar intervine în patogenеза colestazei.

2) Infuziile de acizi monohidroxilați la șobolani, duc la încetinirea și chiar oprirea fluxului biliar apos. De notat că astfel de acizi biliari (de exemplu acid litocolic) au o solubilitate redusă și nu asigură formarea de miceli stabile, ceea ce duce la "înnorirea bilei" în canaliculele și ducturile biliare. S-a mai arătat că în serul bolnavilor cu colestază intrahepatică concentrația de acid litocolic poate crește la valori de 2 $\mu\text{mol/l}$, în timp ce în serul subiecților sănătoși sau chiar în cazurile de hepatită fără componentă colestatică acest acid biliar monohidroxilat nu poate fi decelat. Se poate deci bănui că o perturbare în procesul de hidroxilare al acizilor biliari și o acumulare de compuși monohidroxilați intervine în patogenеза reducerii fluxului biliar apos (4).

3) Administrarea de α naftilzotiocianat (ANIT), o substanță care diminuează activitatea enzimelor microsomale, provoacă fenomene de colestază la animale de experiență. De notat că la nivelul microsomilor celulelor hepatice are loc procesul de hidroxilare a acizilor biliari și de conjugare a acestora cu glicocolul sau cu taurina. Este posibil ca fenomenele de colestază

observate în patologia clinică după administrarea unor medicamente, ca de exemplu fenotiazinele, să se datoreze perturbării activității enzimelor microsomale.

4) Administrarea de fenobarbital, un binecunoscut agent inductor care amplifică activitatea enzimelor microsomale (vezi capitolul 3), produce în multe cazuri o ameliorare a colestazei.

5) Cercetări recente au fost în măsură să demonstreze că administrările de acizi biliari (acid ursodeoxicolic, acid chenodeoxicolic) duc la o creștere a fluxului biliar și la o ameliorare a colestazei. Astfel de observații constituie o verificare în practică a concepției privind rolul anomaliilor în metabolismul și/sau economia acizilor biliari pentru patogenizarea colestazei intrahepatice (24).

6) Colestaza intrahepatică progresivă (boala Byler) furnizează un exemplu ilustrativ de colestază consecutivă unei anomalii genetice în economia acizilor biliari. Boala debutează în prima copilărie, evoluează cu steatoze, hepatomegalie, hipotrofie saturală, rahitism, creșterea exprimată a nivelului serie de acizi biliari și prurit intens, sfârșind prin deces înaintea vârstei de 8 ani. Mecanismul patogen constă din deficitul genetic de sinteză al unei proteine transportoare care asigură transferul acizilor biliari din hepatocite în canaliculele biliare. De remarcat că icterul, respectiv creșterea bilirubinei conjugate, apare la un interval de timp variabil de la creșterea în sânge a acizilor biliari. Această particularitate dovedește că:

a. excreția în canaliculele biliare a acizilor biliari și a bilirubinei conjugate se efectuează prin mecanisme de transport diferite și

b. icterul se dezvoltă în aceste cazuri ca o consecință a deficitului de excreție al acizilor biliari și implicit scăderii fluxului biliar apos (4.13).

7) Administrarea de etinilestradiol determină la șobolan o reducere a fluxului biliar apos și implicit o colestază intrahepatică. Acest efect se datorează unei creșteri a permeabilității canaliculelor biliare, sub influența estrogenilor de sinteză, ceea ce permite difuzarea acizilor biliari din aceste canalicule spre interstițiu. Scăderea consecutivă a concentrației acizilor biliari în canaliculele biliare reduce efectul lor osmotic de atragere a apei în canalicule și de formare a fluxului biliar apos (2.4). Aceste observații experimentale își găsesc un corespondent clinic în colestaza care se dezvoltă la unele femei în ultimul trimestru de graviditate sau după folosirea de anticoncepționale steroidice orale. Întrucât fenomenele de colestază apar doar la un mic procent de femei gravide sau care folosesc anticoncepționalele orale, se bănuiește o susceptibilitate particulară condiționată genetic.

8) Recent s-a putut demonstra că aproximativ 84% din bolnavii cu ciroză biliară primitivă, mai ales femei, prezintă un deficit marcat al proceselor de sulfoxidare care se repercutează negativ asupra funcției antitoxice a ficatului. De fapt, reducerea producției de sulfat anorganic endogen, provenit din oxidarea cisteinei sub acțiunea unei cisteinoxidaze (din sistemul oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte) perturbă procesul de sulfoconjugare a unor metaboliți cu efect colestatic. S-a arătat că sulfoconjugarea acidului litocolic și a unor produși de metabolism ai estrogenilor le reduce în mare măsură activitatea colestatică (18).

În lumina datelor prezentate mai sus rezultă că anomalii în hidroxilarea acizilor biliari și în transportul lor din hepatocite spre canaliculele biliare, sau difuzarea acestor detergenți biologici din canalicule spre interstițiu, are drept urmare o scădere a fluxului biliar apos și o încetinire a secreției de acizi biliari, a căror concentrație scade în bilă dar crește în hepatocite și în ser. Scăderea fluxului biliar apos duce la înnoirea bilei în canalicule, unde se formează "trombi biliari" stagnanți, ajungându-se la lezarea microvililor din canaliculele biliare.

Acizii biliari tensioactivi acumulați în interstiții dizolvă fragmente din membrana plasmatică a hepatocitelor, aceste fragmente trecând în plasmă împreună cu unele enzime membrana, ca de exemplu fosfataza alcalină și γ -glutamil transferaza. Creșterea acestor enzime

indicatoare ale colestazei se realizează însă și printr-un proces de inducere (vezi capitolul 3). Cu timpul este afectată și eliminarea bilirubinei conjugate, astfel încât sindroamele colestatice evoluând la început doar cu creșterea nivelului seric al acizilor biliari și a enzimelor indicatoare ale colestazei, ajung să dezvolte icter. Totodată, funcția hepatocitelor se alterează progresiv, iar prin înlocuirea parenchimului hepatic cu țesut fibros și dezorganizarea arhitecturii ficatului se ajunge la aspecte de ciroză biliară (4,8,12,15).

Datele privind rolul anomaliilor în economia acizilor biliari, având drept efect reducerea fluxului biliar apos nu acoperă decât parțial complexitatea mecanismelor ce intervin în patogeniza colestazei intrahepatice. De fapt, la mecanismele amintite se pot adăuga procese inflamatorii care duc la comprimarea ducturilor biliare și la lezarea acestor ducturi care se fibrozează. S-au demonstrat și interferențe mai subtile între procesele inflamatorii și economia acizilor biliari. Așa de exemplu, factorul de necroză tumoral (TNF) inhibă captarea acizilor biliari de către hepatocitele în cultură, fenomen care sugerează că această citokină proinflamatorie este un important mediator al colestazei survenite în stările septice (28). Se știe de asemenea că în ciroza biliară primitivă se constată frecvent anomalii imunologice, cum sunt creșterea imunoglobulinelor M (IgM), prezența în ser a anticorpilor antimitocondriali și scăderea activității in vitro a limfocitelor T supresoare. Mecanismele prin care aceste anomalii ale imunității ar putea interveni în dezvoltarea cirozei biliare sunt încă neclare, iar rolul lor în inițierea procesului patologic nu a fost încă dovedit cu certitudine (15).

4.4.5. ACIZII BILIARI CA TEST DE EXPLORARE FUNCȚIONALĂ A FICATULUI

Nivelul seric al acizilor biliari poate să crească nu numai în cazul colestazei ci și ca urmare a insuficienței hepatice. Deși ficatul este singurul organ care sintetizează acizi biliari, leziunile hepatice afectează în mai mare măsură procesul de captare hepatică a acizilor biliari reabsorbiți din intestin decât sinteza lor. Ca urmare, acizii biliari reabsorbiți din intestin și necaptați în hepatocite trec prin venele suprahepatice în circulația sistemică, nivelul lor fiind oarecum paralel cu gravitatea insuficienței hepatice. Astfel, în timp ce în urma colestazei cresc în ser mai mult acizii biliari primari neeliminați prin bilă în intestin, în insuficiența hepatică se constată o creștere proporțional mai mare a acizilor biliari secundari. O astfel de diferențiere a tipului de acizi biliari care cresc în ser implică însă investigații cromatografice complexe și nu contribuie în mod decisiv la diferențierea colestazei față de o insuficiență hepatică, cu atât mai mult cu cât cele două procese patologice se pot asocia. Asupra valorii diagnostice a determinărilor de acizi biliari în bolile ficatului se va reveni în capitolul următor.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Accatino, L., Simon, F.R. Identification and characterisation of a bile acid receptor in isolated liver cells surface membranes. *J.Clin.Invest*, 1976, 57: 496-508.
2. Accatino, L., Figueroa, C., Pizzaro, M., Solis, N. Enhanced biliary excretion of canalicular membrane enzymes in estrogen-induced and obstructive cholestasis, and effects of different bile acids on the isolated perfused rat liver. *J.Hepatology*, 1995, 22: 658-670.
3. Admirand, W.H., Small, D.M. The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man. *J.Clin.Invest*, 1968, 47: 1043-1052.
4. Berk, P.D., Javitt N.B. Hyperbilirubinemia and cholestasis. *Amer.J.Med.*, 1978, 64: 311-326.

5. Creutzfeld, W., Schmidt, H. Aetiology and pathogenesis of pancreatitis (current concepts). Scand. J. Gastroenterol, 1970, 5 (suppl 6), 47-62.
6. Cucuianu, M., Olinic, N., Goia, N., Fekete, T. Biochimie clinică, col. II, Editura Dacia, Cluj, 1979.
7. Cucuianu, M., Ionescu, N.G., Vulcu, V., Trif, I. Transient elevation of serum bile acids during acute pancreatitis. International Journal of Pancreatolgy, 1988, 3: 151-156.
8. De Caestecker, J.S., Jazrawi, R.P., Nisbett, J.A., Joseph, A.E., Maxwell, J.D., Northfield, T.C. Direct assessment of the mechanism for a raised serum bile acid level in chronic liver disease. Eur. J. Gastroenterology and Hepatology, 1995, 7: 955-961.
9. Dumitrescu, D., Acalovschi, M., Grigorescu, M. Litiază biliară. Editura Academiei București, 1989.
10. Grigorescu, M., Tăpălagă, D., Dumitrașcu, D. Patologia clinică a acizilor biliari. Editura Dacia, Cluj, 1983.
11. Hoffman, A.F. The enterohepatic circulation of bile acids in man, Clin. Gastroenterol, 1977, 6: 3-24.
12. Iwamura, K. Bile acid metabolism and liver disease. Das medizinische Prisma Boehringer Ingelheim, 1982, 3: 3-27.
13. Jacquemin, E., Dumont, M., Bernard, O., Erlinger, S., Hadchouel, M. Evidence for defective primary bile acid secretion in children with progressive familial intrahepatic cholestasis (Byler disease). Eur. J. Pediatrics, 1994, 153, 424-428.
14. Javitt, N.B. Hepatic bile formation. N. Engl. J. Med, 1976, 295, 1464-1469: 1511-1516.
15. Kaplan, M.M. Primary biliary cirrhosis. N. Engl. J. Med, 1987, 316, 521-528.
16. Kless, H.J., Braganza, J.M., Warnes, T.W. Pancreas in primary biliary cirrhosis. Gut., 1980, 21, A 448.
17. Mattern, S., Hackenschmidt, J., Black, P., Grok, W. Advances in bile acid research. F.K. Schattauer, Stuttgart - New York, 1975.
18. Olomu, A.B., Vickers, C.R., Waring, R.H., Clemens, D., Babbs, C., Warnes, T.W., Elias, E. High incidence of poor sulfoxidation in patients with primary biliary cirrhosis. N. Engl. J. Med, 1988, 318, 1089-1092.
19. Read, N.W., Corbett, C.R. The function of the gastrointestinal tract and its laboratory assessment in Williams and Marks (Editors), Biochemistry in clinical practice, William Heineman Medical Books limited, London, 1983, 67-95.
20. Scarpello, J.B.H., Sladen, G.E. Appraisal of the ^{14}C glycocholate acid test with special reference to the measurement of the faecal excretion. Gut. 1977, 18, 742-748.
21. Schmid, R. Hyperbilirubinemia in Stanbury, Wyngaarden, Friderickson (Editors). The metabolic basis of inherited disease, McGraw Hill New York, 1979.
22. Schoenfield, L.J., Lachin, J.M. Chenodiol (chenodeoxycholic acid) for dissolution of gallstones: the National Cooperation Gallstone Study. Ann. Intern. Med, 1981, 95, 257-282.
23. Scherwin, W.E. Liver function in Kaplan and Pesce (Editors), Clinical Chemistry, C.W. Mosby Company, St. Louis Toronto Princeton, 1984, 421-438.
24. Stiehl, A. Gallensauren bei Lebererkrankungen; Therapeutische Umschau, 1995, 52, 682-686.
25. Tăpălagă, D., Opincaru, A., Cucuianu, M. Hepatic secretion enzymes and electrophoretic lipoprotein fractions in liver disease. Acta Hepato-Gastroenterol, 1979, 26, 9-16.
26. Thjodleifsson, B., Barnes, S., Chitrakrou, A., Billing, B.H., Sherlock, S. Assessment of the plasma disappearance of choly-l- ^{14}C glycine as a test of hepatocellular disease. Gut. 1977, 18, 697-702.
27. Vales, T. Severe neonatal jaundice associated with glucosyl-6-phosphate dehydrogenase deficiency: pathogenesis and global epidemiology (Review) Acta Paediatrica Supplement, 1994, 394, 58-76.
28. Whiting, J.F., Green, R.M., Rosenbluth, A.B., Gollan, J.L. Tumor necrosis factor alpha decreases hepatocyte bile salt uptake and mediates endotoxin-induced cholestasis, Hepatology, 1995, 22, 1273-1278.
29. Wintrobe, M.M. Clinical Hematology, Lea Febiger Philadelphia, 1974.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

- Sursele de bilirubină pot fi reprezentate de:
 - Hemoglobina hematiilor îmbătrânite
 - Unele hemoproteine hepatice (citocromi, oxidaze etc.)
 - Hemoliza intramedulară a unor elemente tinere din seria roșie
 - Toate aceste surse.
- În care din stările patologice de mai jos nu se poate decela urobilinogen în urina emisă între orele 14-16?
 - Icter hemolitic
 - Hepatită cronică evoluând cu icter
 - Proliferare microbiană în ileon
 - Neoplasm de cap de pancreas care produce o obstrucție completă a coledocului.
- Hiperbilirubinemia severă la un nou născut (valori de 16-20 mg/dl) poate fi cauzată de:
 - Un proces de hemoliză prin incompatibilitate de Rh
 - Un deficit de captare a bilirubinei neconjugate de către hepatocite
 - Un deficit de glicuroconjugare
 - Toate aceste procese contribuie.
- În care din stările patologice de mai jos nu se constată prezența de pigmenți biliari (bilirubină) în urină:
 - Icter hemolitic
 - Sindrom Dubin-Johnson
 - Icter mecanic
 - Hepatita acută cu fenomene de colestază și scaun decolorat
 - Sindrom Gilbert
- Stabiliți corespondența între afecțiunile determinate genetic amintite mai jos și câteva particularități clinice și de laborator mai caracteristice:

A. Sindrom Gilbert	I. Hiperbilirubinemie indirectă moderată care se accentuează după un post de 48 de ore
B. Sindrom Crigler-Najjar tip I	II. Evoluează cu creșteri excesive ale bilirubinei neconjugate care pot cauza leziuni ale sistemului nervos (icter nuclear)
C. Sindrom Dubin-Johnson	III. Creșterea acizilor biliari în ser, prurit intens, steatoree, hipotrofie staturală, rahitism
D. Boala Byler	IV. Hiperbilirubinemie conjugată, eliminări urinare de coproporfirină I, la testul cu BSP retenție moderată a colorantului la 45 de minute, urmată de o creștere a concentrației de BSP în ser după 120 minute

6. Stabiliți corespondența între condițiile experimentale de mai jos și efectul lor asupra activității HMG CoA reductazei și 7α colesterolhidroxilazei.

A. Drenaajul biliar sau administrarea de colestiramină	I. HMG CoA reductaza crește; 7α colesterolhidroxilază nemodificată
B. Inaniție	II. Activitatea ambelor enzime crește
C. Administrare de colesterol	III. HMG CoA reductaza scade; 7α colesterolhidroxilază crește
D. Administrarea de tomatină	IV. Activitatea ambelor enzime scade.

7. Care din compușii de mai jos pot cauza o reducere a fluxului biliar apos având drept consecință apariția fenomenelor de colestază:

- A. Etinilestradiol
- B. α -naftilizotiocianat (ANIT)
- C. Acidul litocolic
- D. Toți acești compuși.

8. O bolnavă de 40 de ani, palidă, operată în urmă cu 4 ani, pentru un chist ovarian, prezintă bilirubină neconjugată 2,8 mg/dl; bilirubină conjugată 0,2 mg/dl; hemoglobină 9 g/dl; în urină urobilinogen pozitiv; pigmenți negativi, transaminaze în limite normale.

I. Ansamblul acestor date sugerează:

- A. un icter hemolitic;
- B. un icter mecanic;
- C. o hepatită acută virală subicterică.

II. Care din investigațiile de mai jos ar putea să fie frecvent modificate la mulți subiecți cu un astfel de icter:

- a) creșterea reticulocitelor;
- b) creșterea sideremiei;
- c) test Coombs pozitiv;
- d) scăderea haptoglobinelor serice;
- e) creșterea acizilor biliari în ser;
- f) creșterea fosfatazei alcaline și γ -glutamyltransferazei.

9. Cum considerați că ar fi survenit în realitate secvența fenomenelor indicate mai jos la o bolnavă de 39 de ani care a utilizat timp îndelungat anticoncepționale steroidice orale și fenotiazină, ajungând să dezvolte fenomene de coleastăză:

- A. Dezvoltarea unei ciroze biliare
- B. Perturbarea proceselor de hidroxilare microsomală a acizilor biliari sau defecte de transport ale acizilor biliari în canaliculele biliare
- C. Scăderea fluxului biliar apos și înnoirea bilei în ducturile biliare
- D. Creșterea bilirubinei conjugate în ser

10. Întreruperea circuitului enterohepatic al acizilor biliari (de exemplu după rezecția ileonului) poate avea ca urmare:

- A. Perturbarea absorbției grăsimilor și steatoree
- B. Diarei apoase
- C. O absorbție crescută de acid oxalic la nivelul mucoasei iritate a colonului și risc de litiază urinară (calculi de oxalați)
- D. Toate aceste manifestări patologice
- E. Apariția acestor fenomene la un bolnav cu rezecție de ileon este întâmplătoare și fără legătură cu întreruperea circuitului enterohepatic al acizilor biliari

11. Popularea microbiană a intestinului subțire (de exemplu sindrom de ansă oarbă) poate duce la:

- A. Degradare accelerată a acizilor biliari
- B. Formare sporită de urobilinogeni din bilirubină
- C. Ambele procese
- D. Popularea microbiană a intestinului subțire nu are efecte asupra pigmentilor și acizilor biliari

12. Apariția unui sindrom icteric în cursul evoluției bolii Byler se datorează:

- A. Faptului că atât bilirubina conjugată cât și acizii biliari se elimină prin intermediul aceluiași mecanism de transport activ
- B. În boala Byler există un deficit de glicuronoconjugare
- C. Defectul primar în excreția acizilor biliari în canaliculele biliare duce la diminuarea fluxului biliar apos, ceea ce se repercută asupra drenării și "spălării" bilirubinei conjugate din canaliculele biliare
- D. Toate aceste mecanisme contribuie la creșterea bilirubinei conjugate.

13. Precizați care din afirmațiile de mai jos sunt corecte:

- A. Hemoproteinele hepatice reprezintă principala sursă de bilirubină în organismul uman
- B. Icterul hemolitic se caracterizează prin creșterea accentuată a fosfatazei alcaline
- C. Concentrații ale bilirubinei conjugate de 20 mg/dl sunt toxice pentru sistemul nervos
- D. Sindromul Gilbert prezintă risc de icter nuclear
- E. Drenajul biliar și colestiramina duc la scăderea activității 7 α colesterolhidroxilazei și HMGCoA reductazei
- F. Nivelul seric al acizilor biliari crește evident atât în sindroamele colestatice cât și în insuficiența hepatică severă.

14. Stabiliți care din afirmațiile de mai jos sunt corecte și eventual legate cauzal, notându-se cu:

- a = ambele afirmații corecte și legate cauzal;
- b = ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal;
- c = prima afirmație corectă și a doua afirmație incorectă;
- d = prima afirmație incorectă și a doua afirmație corectă;
- e = ambele afirmații incorecte

I. Valori ale bilirubinei neconjugate de peste 20 mg/dl la un nou născut prezintă risc de icter nuclear deoarece această formă de bilirubină este liposolubilă

II. Bilirubina neconjugată crește mult în sindromul Crigler-Najjar deoarece acizii biliari sunt evident crescuți în serul acestor bolnavi.

III. Drenajul biliar duce la o scădere a activității 7α colesterolhidroxilazei deoarece acizii biliari sunt sintetizați în ficat din colesterol

IV. În colestaza intrahepatică prelungită se ajunge la creșterea nivelului seric de acizi biliari și de bilirubină conjugată deoarece ambii compuși se excretă în canaliculele biliare prin același mecanism de transport.

V. Creșterea raportului colesterol:acizi biliari în bilă predisune la litiază biliară deoarece bilirubina produsă în macrofage și captată în ficat suferă un proces de glicuronoconjugare.

5. BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE EXPLORĂRII FUNCȚIILOR FICATULUI

Numeroasele teste de explorare biochimică a funcțiilor hepatice au valoare diagnostică doar dacă sunt bine fundamentate din punct de vedere fiziopatologic și dacă sunt interpretate în context cu datele clinice.

Aceste teste își găsesc utilitatea pentru:

- a. diagnosticul pozitiv și diferențial al icterelor și în general al diverselor boli ale ficatului;
- b. aprecierea gravității unei suferințe hepatice și implicit stabilirea prognosticului;
- c. evaluarea eficacității terapiei.

În funcție de procesul patologic pe care îl decelează cu predominanță, probele biochimice de explorare a ficatului pot fi împărțite în următoarele categorii:

1. Probe de laborator care semnalează existența unui proces inflamator cronic în mezenchimul hepatic și care corespund pe plan morfologic unor infiltrații limfoplasmocitare în interstițiu;
2. Teste biochimice care indică o creștere a permeabilității membranei hepatocitelor;
3. Investigații care decelează o insuficiență funcțională a ficatului;
4. Probe care denotă existența unei colestaze.

5.1. TESTE CARE REFLECTĂ O INFLAMAȚIE CRONICĂ ÎN SPAȚIUL INTERSTIȚIAL

Infiltrația limfoplasmocitară în spațiile Kiernan din ficat, asociată de cele mai multe ori cu creșterea acelorasi celule în splină și măduva osoasă se traduce prin nivelele serice crescute ale imunoglobulinelor. Întrucât creșterea amintită interesează, de regulă, mai multe clase de imunoglobuline, se ajunge la o așa zisă hiperimunoglobulinemie policlonală (fracțiunea electroforetică gama crescută sub formă de clopot cu baza în jos).

Gradul de creștere a imunoglobulinelor și respectiv al fracțiunii electroforetice gama depinde într-o oarecare măsură de extensia și tendința la progresiune a procesului inflamator cronic, creșterea fiind evident mai accentuată într-o hepatită cronică progresivă, când infiltratele limfoplasmocitare din spațiile portale se extind spre și între cordoanele de hepatocite.

În hepatita acută, creșterea imunoglobulinelor și respectiv a fracțiunii electroforetice gama este variabilă, în funcție de durata bolii și de răspunsul individual la infecția virală. De regulă, astfel de creșteri nu sunt atât de accentuate ca într-o hepatită cronică și se caracterizează mai ales printr-un nivel ridicat de IgM.

Se consideră că în hepatita cronică de natură virală ar crește mai ales IgG, în cirozele biliare creșterea ar interesa cu predominanță IgM, iar în ciroza alcoolică ar surveni o creștere a IgA (23). S-au mai semnalat prezența de anticorpi antimușchi neted în unele cazuri de hepatită cronică progresivă, iar anticorpii antimitocondriali ar surveni cu o mai mare frecvență în cirozele biliare. Valoarea acestor teste imunologice în stabilirea unui diagnostic diferențial este însă

discutabilă și este încă greu de a afirma existența unor aspecte imunologice specifice pentru o anumită afecțiune hepatică. De altfel, hipergamaglobulinemia policlonală nu este specifică hepatopatiilor cronice și se poate întâlni în orice proces inflamator cronic (de exemplu în poliartrita reumatoidă, endocardita infecțioasă sau un proces tuberculos).

Creșterea fracțiunilor electroforetice α_1 și α_2 , respectiv a proteinelor de fază acută (CRP, fibrinogen, α_1 AT), se poate întâlni în boli hepatice evoluând cu fenomene accentuate de colestază, precum și în procese tumorale primitive sau metastatice ale ficatului. De notat că în tumori hepatice, gamaglobulinele nu prezintă creșteri semnificative, excepție făcând adenocarcinomul cu ciroză când pe electroforeza proteinelor serice apar creșteri ale fracțiunilor α_1 și γ (17,22,23).

Deși multe laboratoare clinice au astăzi posibilitatea de a separa proteinele plasmatice prin metode electroforetice și a le doza diferențiat prin metode imunochimice, așa-zisele teste de disproteinemie sau de labilitate coloidală nu și-au pierdut o oarecare utilitate practică, fiind ușor de executat și furnizând rezultate în decurs de 15-30 de minute. Testul cu timol este mai puțin fundamentat biochimic și se pozitivează în caz de creștere a unor globuline cu migrare beta sau gama, precum și a unor lipoproteine care reduc stabilitatea coloidală a serului, dând rezultate fals pozitive în cazurile cu hipertrigliceridemie și plasmă laetescență. În schimb, testul cu sulfat de zinc furnizează relații destul de fidele cu privire la creșterea gamaglobulinelor serice. De notat că în multe cazuri de ciroză hepatică avansată testul timol este normal, pe când sulfatul de zinc este intens pozitiv.

5.2. TESTE CARE INDICĂ O CREȘTERE A PERMEABILITĂȚII MEMBRANEI HEPATOCITELOR

Suferința celulelor hepatice care duce la creșterea permeabilității membranei hepatocitelor, dar nu neapărat la liza sau necroza acestor celule, se detectează pe baza creșterii în ser a unor enzime celulare, ca de exemplu ASAT, ALAT, LDH (izoenzimele 4 și 5) și a GLDH. Există și alte enzime celulare al căror nivel crește în caz de leziuni hepatice, așa cum sunt ornitilcarbamiltransferaza (OCT), izocitratdehidrogenaza (ICDH) și sorbitoldehidrogenaza (SDH), care sunt mai rar utilizate în laboratorul clinic, deși unele dintre ele (OCT, SDH) sunt considerate ca fiind mai specifice pentru parenchimul hepatic. Mecanismele intime care duc la creșterea în ser a enzimelor celulare și factorii de care depinde gradul acestor creșteri au fost prezentate anterior în capitolul 3. Reamintim doar că nivelul seric al acestor enzime de leziune variază în funcție de numărul de hepatocite afectate, de gravitatea lezării fiecărei celule, de viteza cu care s-au produs leziunile și de viteza de eliminare din ser a enzimelor respective. Ca urmare, în diferitele boli ale ficatului se realizează spectre diferite ale activității enzimelor lezionale în funcție de etiologia și stadiul evolutiv al hepatopatiei (vezi tabelul 5.1.)

Astfel, alături de creșterea în ser a enzimelor celulare, se produc și modificări ale raporturilor dintre activitățile diverselor enzime. De exemplu, la subiecții sănătoși raportul ASAT/ALAT (raportul De Rittis) este de aproximativ 1,3, pe când în cazurile comune de hepatită virală acest raport este subunitar datorită creșterii cu predominanță a ALAT, iar atunci când leziunile capătă un caracter necrotizant, raportul amintit crește, întrucât creșterea ALAT se asociază cu o creștere și mai exprimată a ASAT, fiind mărite și valorile enzimelor mitocondriale GLDH.

Aceste "distorsiuni" ale rapoartelor ASAT/ALAT ar putea fi explicate prin mai multe mecanisme:

Tabel 5.1.

Comportarea nivelului serice ale unor enzime celulare (ASAT, ALAT, GLDH) în diferite forme clinice ale unor boli hepatice, în funcție de gradul, extinderea și viteza de instalare a leziunilor. Evaluarea numerică dată sub formă de multipli ai limitei superioare a normalului, are doar un caracter orientativ. Activitatea serică a LDH crește doar în cursul leziunilor severe și rapid instalate.

Grad de afectare a hepatocitului	Moderat			Sever	Relativ sever	Sever	Sever
	anicterică	icterică	necrotizantă				
Număr de celule afectate				mare	variabil	relativ mai redus	redus
Viteza de instalare a leziunilor				rapidă	relativ mai lentă	relativ mai lentă	lentă
Nivelul seric al enzimelor				foarte mult crescut	moderat crescut	moderat crescut	puțin crescut
Exemple de boală	Hepatitis acută			Intoxicație acută (CCl ₄ , ciuperci)	Hepatitis cronică progresivă	Ciroză hepatică activă	Ciroză hepatică "stinsă"
Exemple numerice (X limita superioară a normalului) ASAT	10 X	20 X	100 X	200 X	5-10 X	4-5 X	1-1,5 X
ALAT	15-20 X	30 X	80 X	160 X	3-6 X	2-3 X	1-1,5 X
GLDH	3-4 X	10 X	70 X	900 X	7 X	3 X	1
LDH	-	-	2-3 X	20 X	-	-	-

- În cazul unei leziuni moderate care afectează doar permeabilitatea membranei hepatocitelor, scurgerea din celule interesează mai ales enzimele cu localizarea citosolică, așa cum este ALAT, pe când în cazul unor leziuni cu caracter necrotizant se eliberează din celule și enzimele mitocondriale (de exemplu GLDH), iar ASAT, cu localizare biloculară (citosolică și mitocondrială), crește mai mult decât ALAT.

- S-a arătat că ALAT se află în cantitate mai mare în celulele de la periferia lobulilor hepatici care sunt mai rapid afectate de procesele inflamatorii, debutând de regulă în spațiile interlobulare.

- Timpul de înjumătățire ($T/2$) al ALAT este mai prelungit, astfel încât această enzimă persistă în ser mai mult decât ASAT, al cărei timp de înjumătățire este ceva mai scurt (vezi cap.3).

Ca urmare, în hepatita acută virală, când survine o lezare destul de rapidă dar relativ moderată a unui mare număr de hepatocite, creșterea aminotransferazelor depășește de 10-100 de ori limita superioară a normalului (în medie de 50 de ori), iar de regulă $ALAT > ASAT$.

În hepatita cronică progresivă aminotransferazele cresc de cel mult 20 ori față de limita superioară a normalului (valori între 5-20), iar în procesele necrotice $ASAT > ALAT$.

Hepatita cronică stabilizată, în care procesul inflamator este cantonat în spațiile portale, se însoțește de regulă de creșteri mai puțin exprimate ale acestor enzime (2-3 ori limita superioară a normalului) și de obicei $ALAT > ASAT$.

Hepatopatia alcoolică acută duce la majorări relativ importante ale aminotransferazelor (5-10 ori limita superioară a normalului), iar $ASAT > ALAT$.

În cirozele biliare primitive, creșterea aminotransferazelor este moderată (2-3 ori limita superioară a normalului), iar în cirozele hepatice decompensate parenchimatose (când parenchimul hepatic este în parte înlocuit cu țesut fibros), creșterile enzimatice sunt și mai reduse, accentuându-se în puseurile evolutive necrotice, când $ASAT > ALAT$.

Creșteri abia schițate ale aminotransferazelor survin în procesele neoplazice ale ficatului, când lezarea celulelor hepatice se produce pe arii limitate, în jurul infiltratului malign, dar lezarea acestor celule este severă, astfel încât $ASAT > ALAT$.

Cele mai importante și mai rapide creșteri în ser ale enzimelor celulare survin în leziunile toxice ale ficatului (ciuperci, tetraclorură de carbon). Valorile aminotransferazelor depășesc de 100 de ori limita superioară a normalului, iar $ASAT > ALAT$. În astfel de situații se constată și creșteri ale LDH (izoenzimele 4 și 5) precum și ale GLDH.

Cu excepția cazurilor semnalate mai sus, determinările de LDH nu își găsesc o utilitate reală în explorarea bolilor hepatice, deoarece izoenzimele LDH₄₋₅, specifice ficatului și musculaturii, se elimină rapid din circulație.

O stare patologică particulară caracterizată biochimic prin creșterea exprimată și simultană în ser a enzimelor celulare hepatice (ASAT, ALAT, GLDH, OCT), a celor musculare (CK) precum și a alfa amilazei și lipazei pancreatice se întâlnește în sindromul Reye. Sindromul apare la copii și este alcătuit din două faze: un episod infecțios acut (gripă, varicelă), urmat la câteva zile de vărsături și encefalopatie, asociate cu modificările menționate ale enzimelor serice și cu creșterea în ser a acizilor organici (lactic, piruvic, acetoacetic) și a acizilor aminați. Întrucât examenul histochimic evidențiază o scădere a enzimelor mitocondriale în materialul biptic, sindromul Reye ridică problema unei lezări generalizate a mitocondriilor (1,18,19,23).

5.3. TESTE CARE INDICĂ O INSUFICIENȚĂ FUNCȚIONALĂ A FICATULUI

Ficatul intervine în numeroase procese metabolice, sintetizează o bună parte a proteinelor plasmatice și asigură în mare măsură mecanismele prin care are loc îndepărtarea substanțelor străine organismului (xenobiotice). Îndeplinirea acestor funcții nu depinde doar de masa de celule hepatice funcționale ci și de o perfuzie adecvată a hepatocitelor. Este deci evident că o alterare a circulației hepatice și în special o scurtcircuitare portosistemică va afecta în special testele de traversare hepatică a coloranților și de detoxifiere a produșilor de putrefacție intestinală, chiar dacă masa de celule hepatice nu este excesiv redusă, iar funcția proteosintetică a ficatului este parțial menținută. Din aceste motive apare necesară o diferențiere în mai multe categorii a testelor care explorează funcționalitatea ficatului.

5.3.1. TESTE CARE FURNIZEAZĂ RELAȚII PRIVIND SINTEZA HEPATICĂ DE PROTEINE

Așa cum s-a arătat într-un capitol precedent, marea majoritatea a proteinelor plasmatice, cu excepția imunoglobulinelor, este sintetizată în ficat. Trebuie precizat însă că nivelul plasmatic al unei proteine secretată de ficat depinde nu doar de viteza de sinteză dar și de viteza de degradare. Așa de exemplu, proteinele care sunt rapid catabolizate după formarea de complexe, așa cum sunt haptoglobina și proteina C3 a complementului, nu sunt potrivite pentru evaluarea capacității proteosintetice a ficatului, deși nivelul lor plasmatic poate scădea și din cauza unui deficit de sinteză (17).

Indicatorii cei mai utilizați pentru depistarea unei reduceri a proteosintezei hepatice sunt albumina serică, colinesteraza serică (CHE) și factorii coagulării dependenți de vitamina K. Pentru decelarea unei insuficiențe hepatice care se instalează brusc este de preferat explorarea enzimelor și proteinelor care se caracterizează printr-o viteză de remaniere accelerată (turnover rapid) astfel încât scăderea lor în plasmă survine în scurt timp de la instalarea insuficienței hepatice. Astfel de indicatori sunt prealbumina ($T/2 < 2$ zile), factorul VII al coagulării și proteina C a coagulării ($T/2 = 6-8$ ore la ambele). Deficitul cronic al proteosintezei survenit la bolnavii cu ciroză hepatică se evidențiază însă mai pregnant urmărind scăderea proteinelor și enzimelor cu un turnover mai lent, ca de exemplu albumina serică ($T/2$ aproximativ 20 de zile) și CHE serică ($T/2$ aprox. 14 zile).

Multe laboratoare se limitează la dozarea albuminei serice și a factorilor coagulării dependenți de vitamina K. De notat însă că scăderea albuminei se poate datora nu numai unui deficit de sinteză ci și unei distribuții anormale, trecând în lichidul de ascită într-un caz de ciroză sau în flictenele unui bolnav cu arsuri extinse, respectiv se poate pierde prin urină în caz de proteinurie masivă. Mecanismele amintite nu afectează însă comportarea CHE serice, care, având o greutate moleculară mult mai mare decât albumina, rămâne în compartimentul vascular.

Confirmând datele autorilor germani (1,11,17), observațiile efectuate în laboratorul nostru (5,7) ne-au convins de utilitatea determinărilor de CHE, care constituie unul din puținele teste hepatice cu valoare prognostică. De fapt scăderea progresivă a acestei enzime serice indică o evoluție defavorabilă, iar valorile situate la aproximativ 10% din media normalului atrag atenția asupra pericolului comei hepatice (vezi fig.5.1). Totodată, gradul de scădere a CHE într-o ciroză hepatică decompensată parenchimos este mai accentuat decât scăderea albuminei sau a complexului protrombinc.

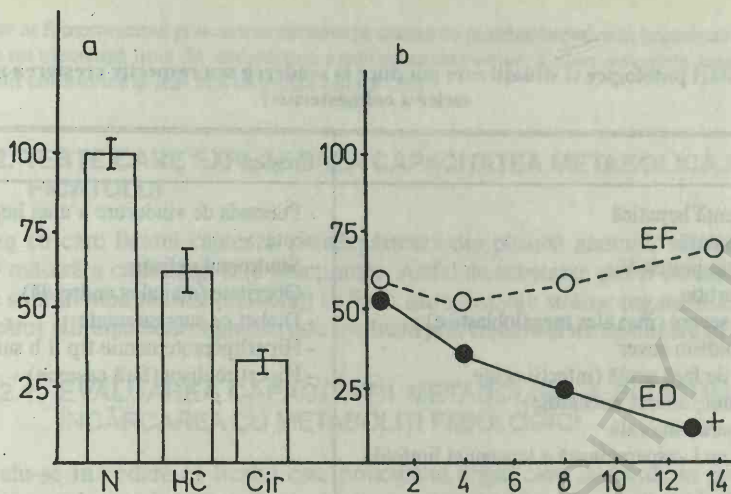


Fig.5.1. a) Valorile medii ale activității CHE serice (în procente din media normalilor) la subiecții normali (N= 100%), la bolnavii cu hepatită cronică activă (HC) și la bolnavii cu ciroză hepatică (Cir). b) Comportarea CHE în cursul evoluției unor cazuri de ciroză hepatică ED = bolnav cu evoluție defavorabilă spre comă hepatică și deces; EF = bolnav cu evoluție relativ favorabilă. Pe abscisă - timpul în luni; pe ordonată - activitatea CHE în procente din media normalilor.

Pe de altă parte, în cazurile de insuficiență hepatică, instalată rapid la un bolnav cu hepatită acută necrotizantă, decesul poate surveni înainte ca scăderea mai lentă a CHE să ajungă sub 50% din media normalilor, pe când factorul VII al coagulării poate ajunge la valori sub 10%.

Pe lângă acest neajuns al determinărilor de CHE, trebuie arătat că scăderea activității acestei enzime poate surveni și în alte situații și că valorile întâlnite la subiecții sănătoși sunt destul de dispersate (mai scăzute la femei gracile și mai crescute la bărbații cu supragreutate).

În tabelul 5.2 sunt trecute principalele situații care duc la modificări ale activității CHE serice.

Din punct de vedere fiziopatologic este important de precizat că, în unele stări patologice, scăderea activității serice a CHE nu se datorează unui deficit de sinteză ci unor variații în reglarea sintezei hepatice de proteine. Așa de exemplu, în reacția de fază acută indusă de citokinele proinflamatorii (în special IL 6) se produce un fel de comutare a sintezei de proteine în ficat, astfel încât creșterea secreției proteinelor de fază acută (α_1 antitripsină, fibrinogen, α_1 glicoproteină acidă) se însoțește de scăderea producției de CHE, albumină, lipoproteine, transferină și factor XIII al coagulării.

O mențiune specială merită însă acordată scăderilor cu caracter genetic ale activității CHE serice, datorate producerii unei variante de enzimă inactivă față de toate substraturile cunoscute ale CHE. În astfel de situații, depistarea unei activități deosebit de scăzute a CHE (practic nulă la homozigoți și de 50-60% la heterozigoți) constituie o surpriză de laborator și contrastează cu starea generală a subiectului investigat și cu lipsa altor semne de afectare a ficatului (aminotransferazele, albumina serică și testele de coagulare fiind normale). Această anomalie, ca și existența altor variante atipice (dibucainrezistentă, fluororezistentă) de CHE nu sunt însă lipsite de interes clinic, deoarece, spre deosebire de CHE normală, variantele atipice nu sunt capabile să hidrolizeze succinilcolina, un miorelaxant utilizat în anestezie. Din acest

Tabel 5.2.

Diverse stări patologice și situații care pot duce la scăderea sau respectiv creșterea activității
serice a colinesterazei

Scăderi	Creșteri
<ul style="list-style-type: none"> - Insuficiență hepatică - Ficat de stază - Denutriție proteică - Malabsorbție - Anemii severe (mai ales megaloblastice) - Hipotiroidism sever - Reacție de fază acută (infecții acute, postoperator, infarct miocardic) - Impregnare tumorală - Terapie cu L-asparaginază a leucemiei limfoide acute - Terapie cu ciclofosamidă - Intoxicații cu pesticide organofosforice - Sarcină (scădere fiziologică) - Contraceptive orale - Scăderi cu caracter genetic 	<ul style="list-style-type: none"> - Perioada de vindecare a unei hepatite acute - Sindromul nefrotic - Obezitate (mai ales androidă) - Diabet cu supragreutate - Hiperlipoproteinemie tip II b sau IV - Hipertiroidism (fără cașexie)
Scăderile activității CHE se pot datora fie unei deprimări a capacității de sinteză, fie unei modificări a reglării sintezelor hepatice de proteine, fie unei inhibări a enzimei ca de exemplu în intoxicația cu organofosforice.	Creșterile activității CHE pot fi în genere atribuite unei stimulări a sintezei hepatice de proteine

motiv, administrarea succinilcolinei unor subiecți cu anomalii ale CHE este urmată de o perioadă prelungită de apnee.

CHE, albumina și factorii coagulării sunt doar o parte a numeroaselor enzime și proteine secrete de către ficat. Între acestea se includ lecitincoolesterolaciltransferaza (LCAT), ceruloplasmina, factorul XIII stabilizator al fibrinei, antitrombina III - principalul inhibitor al coagulării, α_2 antiplasmina - principalul inhibitor al plasminei, o bună parte a inhibitorului activării plasminogenului (PAI); fibronectina, proteinele C și S cu rol în limitarea coagulării, factorul V al coagulării, transferina și numeroase alte molecule proteice aflate în cantități mici și având rol în transportul vitaminelor și al hormonilor.

Deși fiecare din proteinele plasmatice amintite mai sus au semnificație funcțională și pot prezenta variații patologice, ele nu sunt utilizate de rutină pentru explorarea funcției proteosintetice a ficatului. Reamintim doar că prin importantul său rol atât în sinteza factorilor procoagulanți și antifibrinolitici, precum și a celor anticoagulanți, ficatul este în mare măsură responsabil de menținerea hemostazei, iar insuficiența hepatică severă poate evolua atât cu sindrom hemoragic cât și cu fenomene de coagulare intravasculară diseminată (9,21).

O situație oarecum particulară a sintezelor hepatice de proteine survine în cazul hepatopatiilor colestatice. Se pare că prin mecanisme încă insuficient elucidate retenția biliară stimulează sinteza unor proteine ca de exemplu: factorii coagulării dependenți de vitamina K, inclusiv proteina C (4,9), antitrombina III, componenta C3 a complementului, proteina C reactivă și o serie de inhibitori plasmatici ai proteazelor (22). Este evident însă că în cazul unei colestaze extrahepatice care perturbă absorbția vitaminei K, activitatea procoagulantă a factorilor coagulării dependenți de această vitamină va scădea.

Oricare ar fi mecanismul prin care se stimulează sinteza de proteine hepatice în hepatopatiile colestatice, acestea nu afectează tipul de comportare a colinesterazei serice, a cărei activitate scade în astfel de hepatopatii colestatice și mai ales în ciroza biliară (26).

5.3.2. TESTE CARE EXPLOREAZĂ CAPACITATEA METABOLICĂ A FICATULUI

Viteza cu care ficatul captează și îndepărtează din plasmă anumite substanțe poate constitui o măsură a capacității sale funcționale. Astfel de substanțe pot fi metaboliți fiziologici care sunt în mod normal prelucrați în ficat, sau substanțe străine organismului (xenobiotice) a căror eliminare din organism este facilitată prin captare și metabolizare în ficat (17).

5.3.2.1. EVALUAREA CAPACITĂȚII METABOLICE A FICATULUI PRIN ÎNCĂRCAREA CU METABOLIȚI FIZIOLOGICI

Avându-se în vedere că ficatul este principalul organ care intervine în procesul de metabolizare a galactozei și a acizilor aminați, acești compuși au fost utilizați în instituirea unor probe hepatice funcționale.

Testul cu galactoză. Acest test se bazează pe faptul că la subiecții sănătoși galactoză este rapid captată din plasmă doar în ficat și transformată în glucoză prin fosforilare și epimerizare în hepatocite. Marea viteză de extracție din plasmă a galactozei face ca acest test să fie în mare măsură dependent de variațiile fluxului sanguin hepatic.

Un procedeu relativ simplu constă în evaluarea galactozuriei provocate când se administrează subiectului investigat 40 g de galactoză în 250 ml ceai, recoltându-se apoi urina pe timp de 4 ore. În timp ce subiecții normali nu elimină mai mult de 3 g galactoză, bolnavii cu insuficiență hepatică elimină cantități cu atât mai mari cu cât decompensarea parenchimatooasă este mai severă.

O probă mai bine standardizată constă în injectarea intravenoasă a unei soluții de galactoză (0,5 g galactoză/kg greutate corporală) în decurs de 5 minute. Se determină apoi galactozemia la intervale de 5 minute timp de o oră de la inițierea injectiei, măsurându-se și eliminările urinare. Pe baza vitezei de scădere a galactozei din sânge se poate calcula capacitatea ficatului de a capta și metaboliza galactoză. La normali valoarea medie \pm SD este de $6,7 \text{ mg} \pm 1/\text{minut/kg}$ greutate corporală și scade în caz de insuficiență hepatică. De notat că testul de captare și metabolizare se utilizează doar în scop de cercetare, putându-se obține informații asupra circulației hepatice (17, 18, 10).

Teste de încărcare cu aminoacizi. Ficatul reprezintă principalul organ în care are loc metabolizarea acizilor aminați, respectiv dezaminarea oxidativă, aminotransferarea (transaminare) și incorporarea lor în proteinele hepatice sau în proteinele plasmatice de export. La subiecții normali, îndepărtarea acizilor aminați din sânge decurge cu o viteză de peste 20 g/oră, captarea hepatică fiind favorizată de insulină. În insuficiența hepatică sau în cursul tratamentului cu L-asparaginază care perturbă sinteza de proteine în ficat, se ajunge la creșteri importante ale aminoacidemiei, fenomenul accentuându-se mult în contextul încărcării cu aminoacizi în perfuzie. S-au imaginat diverse teste de încărcare cu acizi aminați dintre care cel mai sensibil pare a fi cel cu metionină marcată ^{35}S sau ^{75}Se . În caz de insuficiență hepatică, captarea acestui aminoacid marcat este încetinită, iar un procent important de metionină nemetabolizată apare în urină. Testul permite și o evaluare a măsurii în care aminoacidul marcat se încorporează în diversele proteine plasmatice (vezi fig.5.2) (25).

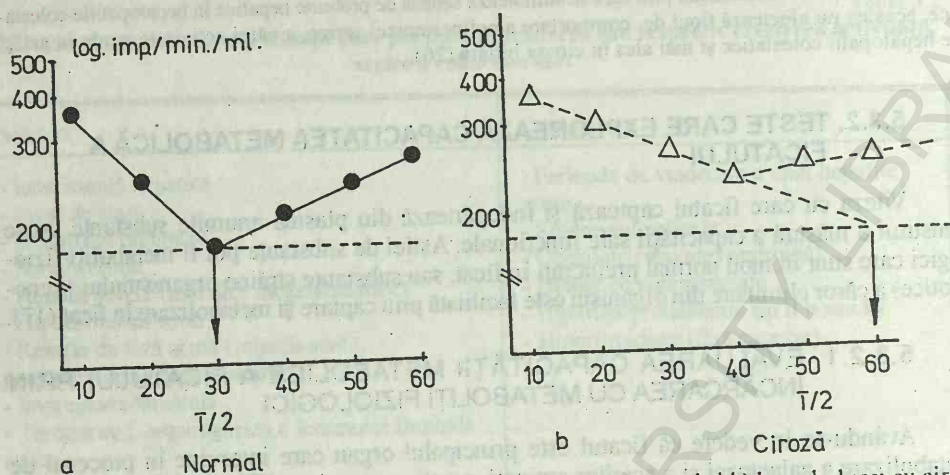


Fig. 5.2. Testul de încărcare cu ^{75}Se metionină a) la un subiect normal și b) la un bolnav cu ciroză hepatică decompensată parenchimatos.

Pe abscisă timpul de la administrarea izotopului (în minute). Pe ordonată radioactivitatea plasmei (impulsuri/min/ml în reprezentare logaritmică).

Timpul de înjumătățire ($T/2$) biologică a metioninei, indicând captarea hepatică a aminoacidului se poate calcula din panta descendentă și este indicat printr-o săgeată perpendiculară pe abscisă. Panta ascendentă indică "reîntoarcerea" radioactivității în plasmă în urma încorporării metioninei marcate în proteinele plasmatice. De notat că la bolnavul cu insuficiență hepatică captarea metioninei în ficat este încetinită, iar încorporarea aminoacidului marcat în proteinele plasmatice este mult întârziată.

Dozarea amoniemiei. Cea mai mare parte a amoniacului (NH_3), rezultat din deaminarea acizilor aminați în ficat și în alte țesuturi și mai ales sub acțiunea bacteriilor intestinale este transformat în uree la nivelul hepatocitelor. Datorită eficienței procesului de ureogeneză, nivelul amoniacului sanguin se menține, la normali, în limite joase de 10-20 $\mu\text{g/dl}$ (5.87-11.74 $\mu\text{mol/l}$). În caz de insuficiență hepatică și mai ales în caz de șuntare a circulației portocave, nivelul amoniemiei poate crește până la de 5 ori limita superioară a normalului, valorile putând fi mai ridicate atunci când la un bolnav cu ciroză hepatică survine o hemoragie digestivă superioară. Creșterea amoniemiei orientează asupra pericolului encefalopatiei portale considerându-se că amoniacul ar avea un efect toxic asupra sistemului nervos central (22). De fapt amoniacul nu este singurul și probabil nici principalul compus toxic de proveniență intestinală implicat în producerea manifestărilor neuropsihice la bolnavii cu ciroză hepatică. Așa de exemplu, aminele rezultate în intestin prin decarboxilarea aminoacizilor aromatici (tirozină, fenilalanină), nedegradate în ficat și având o structură similară catecolaminelor (de exemplu feniletanolamină), pot interfera cu acești mediatori chimici la nivelul receptorilor adrenergici, putând astfel explica atât hipotensiunea cât și fenomenele neuropsihice ale bolnavilor cu insuficiență hepatică (17,19).

5.3.2.2. EXPLORAREA CAPACITĂȚII FICATULUI DE A METABOLIZA ȘI A ELIMINA SUBSTANȚE STRĂINE ORGANISMULUI (XENOBIOTICE)

Pentru ca un xenobiotic să poată fi utilizat în clinică el trebuie să îndeplinească următoarele condiții: să nu fie toxic pentru bolnavi; să fie eliminat din plasmă doar, sau mai ales prin captare hepatică; să poată fi administrat pe cale intravenoasă, sau în caz de administrare orală să se absorbă rapid și cât mai complet; să poată fi dozat în plasmă sau eventual în salivă.

Pentru majoritatea acestor substanțe, eliminarea din plasmă decurge logaritmic, iar prin dozări seriate ale concentrației lor în plasmă se poate stabili viteza de eliminare și respectiv valoarea clearance (CI) conform formulei:

$$CI = \frac{0,693 \times Vd}{t / 2}$$

unde:

0,693 reprezintă logaritmul natural de 2; Vd reprezintă volumul de distribuție al substanței, care se obține împărțind doza de substanță administrată la concentrația plasmatică a respectivei substanțe, extrapolată la timpul 0.

Este evident că valorile clearance vor depinde de capacitatea de captare și metabolizare de către hepatocite, dar și de debitul sanguin hepatic. Ca urmare, într-un caz de insuficiență cardiacă cu ficat de stază astfel de explorări vor furniza valori de clearance mult mai scăzute decât s-ar putea datora suferinței hepatice. Un exemplu tipic în acest sens este testul bazat pe excreția de bromsulfonftaleină (BSP): de altfel datorită unor efecte secundare nedorite (periflebită, reacții anafilactice) precum și datorită costului ridicat, acest test este rar practicat în laboratorul clinic (18,19).

Testul cu verde de indocianină este mai lipsit de riscurile prezentate de BSP, dar prețul de cost este și mai ridicat, iar colorantul este instabil în plasmă, astfel încât concentrația în plasmă trebuie măsurată la scurt timp de la recoltarea probei de sânge.

Spre deosebire de testele bazate pe eliminările de coloranți mai sus amintite, antipirina nu se fixează pe proteinele plasmaticе și difuzează în toate compartimentele organismului (plasmă, lichid interstițial și apă celulară). Medicamentul este captat de ficat, metabolizat și eliminat sub formă de metaboliți care pot fi detectați în urină sub formă conjugată. Testul cu antipirină prezintă o serie de avantaje:

- a. administrat în soluție apoasă medicamentul se absoarbe integral din intestin ceea ce permite administrarea pe cale orală;
- b. se răspândește relativ uniform în toate țesuturile și umorile ceea ce permite dozarea substanței nu numai în plasmă ci și în salivă;
- c. captarea și metabolizarea antipirinei de către hepatocite sunt mai puțin influențate de variațiile debitului sanguin;
- d. dispariția din plasmă (sau salivă) poate fi reprezentată liniar atunci când logaritmul concentrațiilor se raportează la timp (vezi fig.5.3).

Pe de altă parte, s-a constatat o variabilitate destul de accentuată a valorilor de clearance ale antipirinei la subiecții sănătoși, metabolizarea substanței fiind dependentă de factori genetici, de vârstă (scade cu vârsta) de starea de nutriție (scade la denutriți) și de eventualele medicații administrate. Așa de exemplu, administrarea repetată de agenți inductori (fenobarbital, DDT, dicumarol, alcool) accelerează ritmul de metabolizare al antipirinei, în timp ce betablocantele de tipul propranololului încetinesc procesul de clearance (2,14). S-a considerat chiar (19) că principala valoare a testului cu antipirină ar fi aceea de evaluare a sis-

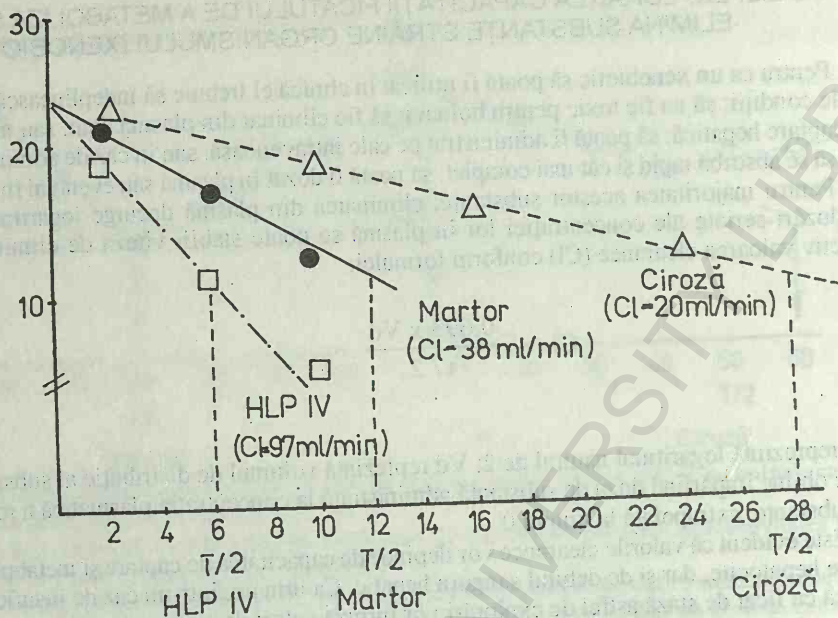


Fig. 5.3. Explorarea funcției sistemului microsomal de hidroxilare pe baza procesului de clearance al antipirinei. Pe abscisă timpul în ore; pe ordonată concentrație de antipirină în salivă în $\mu\text{g/ml}$ (reprezentare logaritmică). De notat că la bolnavul cu ciroză hepatică $T/2$ este net prelungit, iar valoarea clearance este diminuată. Pe de altă parte, în comparație cu subiectul de control, subiectul cu hiperlipoproteinemie de tip IV se caracterizează printr-o accelerare a mecanismelor implicate în eliminarea antipirinei.

temului microsomal al oxidoreductazelor cu funcții mixte (vezi cap.3). Cu toate acestea, o afectare hepatică severă, inclusiv ciroza alcoolică, se asociază cu o scădere a procesului de clearance al antipirinei.

Metode de clearance hepatic bazate pe dozarea $^{14}\text{C}_2$ în aerul expirat. Implică utilizarea unor substanțe marcate cu ^{14}C în lanțurile laterale metil sau etil. În urma metabolizării (demetilări, deetilări) aminopirinei (^{14}C -dimetil-aminoantipirină), cafeinei sau fenacetinei se eliberează molecule de $^{14}\text{CO}_2$ care se elimină prin respirație. Prin captarea $^{14}\text{CO}_2$ din aerul respirat și dozarea radioactivității se poate aprecia capacitatea ficatului de a metaboliza compușii amintiți (17,18,19).

5.4. TESTE INDICATOARE ALE COLESTAZEI

Din punct de vedere fiziopatologic colestaza poate fi definită ca o perturbare în procesul de formare și curgere a bilei și implicit însoțită de o diminuare a debitului biliar. Această perturbare poate surveni începând de la polul biliar al hepatocitelor (postmicrosomal) și până la nivelul sfincterului lui Oddi.

Din punct de vedere morfologic, colestaza se caracterizează printr-o acumulare vizibilă de pigmenti biliari în hepatocite și prezență de "trombi biliari" în canaliculele biliare, iar sub aspect clinic, impresionează marea incidență a pruritului. Se disting **colestaze extrahepatice** (calcul în căile biliare, coledocită scleroasă, neoplasm de cap de pancreas) și **colestază intrahepatică**, cea mai reprezentativă formă clinică fiind ciroza biliară.

În timp ce mecanismul patogenic al colestazei extrahepatice este relativ simplu, constând din îngustarea sau chiar obstrucția mecanică a principalelor căi biliare extrahepatice (în special coledocul), patogeniza colestazei intrahepatice este mai obscură. Se consideră că în această ultimă formă de colestază ar surveni o perturbare a formării fluxului biliar apos la nivelul canaliculelor biliare, această modificare fiind în legătură cu anumite anomalii în economia acizilor biliari (vezi cap. 4).

Există anumite teste biochimice care se pozitivează în ambele forme de colestază și care constau din retenția în sânge a componentelor bilei și în special a acizilor biliari și din creșterea activității serice a "enzimelor de colestază", respectiv a fosfatazei alcaline, γ -glutamilttransferazei, 5-nucleotidazei și leucinaminopeptidazei.

5.4.1. ENZIME INDICATOARE ALE COLESTAZEI

În practica clinică se utilizează dozările de fosfatază alcalină (AIP) și γ -glutamilttransferază (γ -GT), al căror nivel crește chiar și în formele minore de colestază, atunci când nivelul bilirubinei conjugate este normal sau prezintă creșteri abia schițate. Gradul de sensibilitate și de specificitate prezintă diferențe apreciabile. Astfel AIP poate crește de 5-10 ori față de limita superioară a normalului, pe când γ -GT ajunge la valori de 20-50 ori, limita superioară a normalului.

Pe de altă parte, AIP crește și în boli osoase (vezi cap.7), iar pentru diferențierea AIP de origine hepatobiliară față de cea provenită din osteoblaste este necesară dozarea izoenzimelor (electroforetic, prin gradul de inactivare la căldură sau cu ajutorul unor inhibitori specifici pentru o anumită izoenzimă). Dacă însă creșterea AIP survine concomitent cu cea a γ GT se poate afirma existența unui proces de colestază.

Creșterea activității serice a γ -GT este și mai puțin specifică pentru colestază, valori crescute ale acestei enzime putându-se întâlni în orice afecțiune hepatică. Gradul de creștere al activității γ -GT este însă mai puțin exprimat într-o hepatită cronică fără fenomene de colestază (2-5 ori limita superioară a normalului) decât într-un caz în care colestaza se situează pe primul plan. O situație mai deosebită este dată de consumul cronic de alcool și de tratamentul cronic cu anticonvulsivante (fenobarbital, fenitoină). Creșterile γ -GT sunt relativ moderate în urma tratamentului cu anticonvulsivante, în timp ce la alcoolici nivelul seric al γ -GT poate ajunge la de 50 de ori valoarea normalului, creșterea AIP depășind rareori dublul valorilor normale. Gradul de creștere al γ GT la un alcoolic variază de la caz la caz și nu depinde atât de cantitatea de alcool consumată cât mai ales de persistența îndelungată a consumului. S-a mai arătat că o încărcare suplimentară cu alcool la un caz de alcoolism cronic produce în decurs de 24 de ore o creștere și mai accentuată a activității serice a γ GT, în timp ce o aceeași încărcare cu alcool are efecte minime la un subiect sănătos, care consumă băuturi alcoolice doar în mod ocazional (vezi fig. 5.4).

De notat că în condițiile unei alterări grave a proteosintezei hepatice (valori ale CHE în jur de 20% din media celor normale) survenite la un bolnav cu ciroză alcoolică, activitatea serică a γ GT nu mai prezintă valori atât de ridicate și depășește rareori triplul valorilor normale.

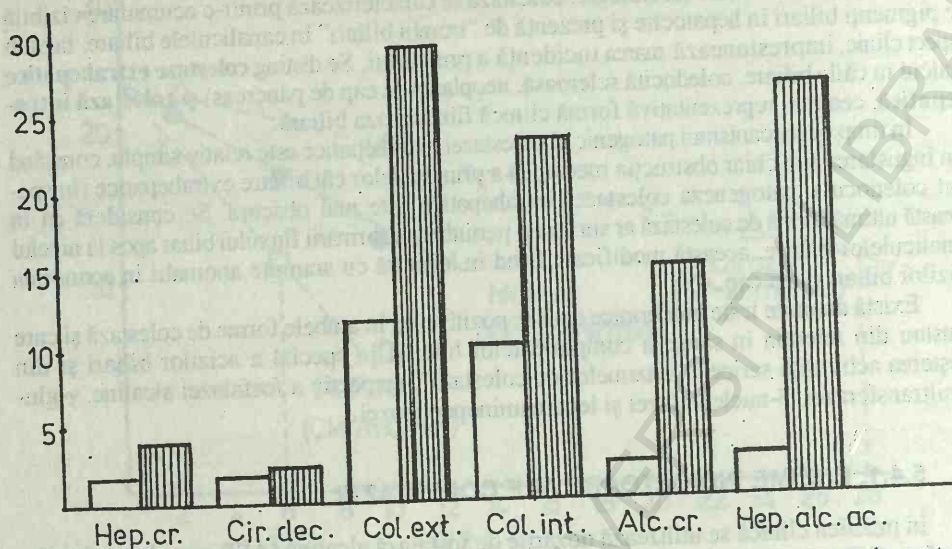


Fig. 5.4. Comportarea fosfatazei alcaline (culoane albe) și γ -glutamyltransferazei (coloane hașurate) în hepatita cronică activă (H.cr.), ciroza hepatică decompensată parenchimatos (Cir.dec.), colestază extrahepatică (col.ext.), colestază intrahepatică (col.int.), în alcoolismul cronic (Alc.cr.) și într-o hepatită alcoolică acută survenită pe un fond de alcoolism cronic (hep.alc.ac). Pe ordonată activitățile enzimactice în multipli ai limitei superioare a normalului.

Creșteri importante ale γ GT și AIP se întâlnesc în leptospiroza icterohemoragică (boala Weil), în intoxicația cu clorpromazină și în tumorile primitive sau metastatice ale ficatului.

Urmărirea în dinamică a comportării γ GT și AIP poate aduce precizări cu privire la procesul patologic care a dus la creșterea activității enzimelor mai sus menționate. Astfel, în condițiile opririi consumului de alcool de către un subiect alcoolic se ajunge la o scădere progresivă a activității γ GT; într-o colestază intrahepatică (de exemplu ciroză biliară) activitatea enzimelor se menține constant crescută, iar într-un caz de neoplasm hepatic nivelul γ GT crește progresiv: de la o examinare la altă (vezi fig. 5.5).

Pentru o mai bună înțelegere a modificărilor patologice suferite de γ GT și AIP este important să se precizeze **mecanismele prin care se ajunge la creșterea activității serice a acestor enzime**. Există dovezi conform cărora creșterea în ser a γ GT la alcoolici și la subiecții tratați timp îndelungat cu barbiturice se însoțește de o sporire a concentrației de enzimă în celulele hepatice și mai ales în microsomi. Aceste constatări sugerează că sub acțiunea alcoolului și a fenobarbitalului are loc o creștere a sintezei hepatice de γ GT, din care o anumită fracțiune trece în ser. Procesul ar reprezenta un exemplu de **inducere enzimatică**, iar nivelul seric al γ GT devine un indicator al unui astfel de proces (vezi cap. 3). Se consideră de asemenea că agenții care induc o colestază intrahepatică stimulează și sinteza de γ GT și AIP. Pe de altă parte, procesul colestatic prin care se ajunge la o creștere a acizilor biliari tensioactivi în interstițiul ficatului se va însoți de o lezare a membranei lipoproteice a hepatocitelor și de eliberarea de enzime din celule. În cazul proceselor tumorale se ajunge la dezvoltarea unei colestaze limitate localizată în jurul procesului malign. Fenomenul duce la creșterea enzimelor indicatoare ale colestazei, deși, în lipsa obstrucției unui duct biliar principal, nivelele serice de bilirubină

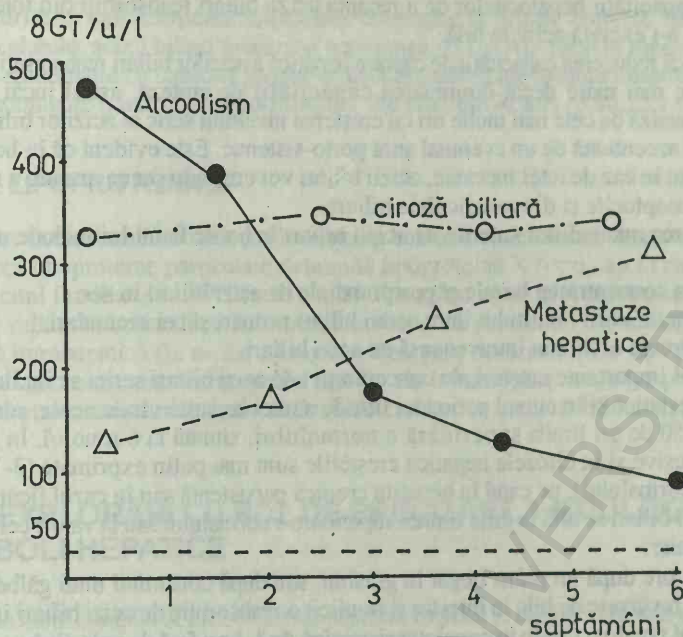


Fig.5.5. Comportarea γ -glutamilttransferazei în cursul evoluției la un bolnav cu alcoolism după încetarea consumului de alcool, la un caz de ciroză biliară precum și într-un caz de metastaze hepatice ale unui carcinom gastric evoluând fără icter.

și acizi biliari nu sunt evident crescute. Se poate bănuși că metastazele hepatice ale unor carcinome gastrice sau pancreatice ar produce substanțe care stimulează sinteza și eliberarea de γ GT. Oricum, creșterea progresivă de ALP și γ GT la un bolnav fără icter sugerează dezvoltarea unui proces malign care trebuie documentat prin imagistică și explorarea radiologică a tubului digestiv. Pe de altă parte, în cazurile în care tumora hepatică comprimă sau obstruează coledocul se vor dezvolta toate manifestările unei colestaze extrahepatice (icter mecanic), iar creșterea progresivă a γ GT și ALP se asociază cu hiperbilirubinemie (bilirubină conjugată) și cu creșterea acizilor biliari în ser (1,6,8,12,20,26).

5.4.2. CREȘTEREA NIVELULUI SERIC AL ACIZILOR BILIARI

Bazele fiziologice ale producției și circuitului enterohepatic al acizilor biliari au fost prezentate într-un capitol anterior. Reamintim doar că o creștere a acizilor biliari în ser se poate datora nu numai colestazei dar și unei insuficiențe hepatice. De fapt o suferință hepatică poate afecta economia acizilor biliari prin cel puțin 3 mecanisme:

- scăderea sintezei hepatice de acizi biliari;
- reducerea gradului de hidroxilare a acizilor biliari cu repercusiuni asupra solubilității acestora și implicit asupra formării fluxului biliar apos;

- reducerea capacității hepatocitelor de a recapta acizii biliari reabsorbiți din intestin, de a-i conjuga și de a-i excreta activ în bilă.

Se pare că reducerea capacității de captare hepatică a acizilor biliari reabsorbiți din intestin are o pondere mai mare decât diminuarea capacității de sinteză, astfel încât suferințele hepatice evoluează de cele mai multe ori cu creșterea nivelului seric al acizilor biliari, această creștere fiind accentuată de un eventual șunt porto-sistemic. Este evident că în hepatopatiile colestatice, sau în caz de icter mecanic, acizii biliari vor crește în ser ca urmare a refluării lor în sânge din hepatocite și din canaliculele biliare.

Explorarea anomaliilor suferite de acizii biliari în bolile ficatului include următoarele aspecte:

- determinarea concentrației bazale și postprandiale de acizi biliari în ser;
- detectarea modificării raportului între acizii biliari primari și cei secundari;
- teste de încărcare orală sau intravenoasă cu acizi biliari.

Cele mai importante creșteri ale concentrației de acizi biliari serici se întâlnesc în sindroamele colestatice și în cursul perioadei floride a unei hepatite virale acute, când se poate depăși de 10-50 de ori limita superioară a normalului, situată la $6 \mu\text{mol/l}$. În hepatitele cronice progresive și în cirozele hepatice creșterile sunt mai puțin exprimate (3-7 ori limita superioară a normalului), pe când în hepatita cronică persistentă sau în cazul ficatului grăos nivelul acizilor biliari se află în jurul limitei superioare a normalului sau la valori cel mult duble ale acestei limite.

La două ore după un prânz bogat în grăsimi, sau după consumul unui gălbenuș de ou, care produc o revărsare de bilă în intestin și implicit o reabsorbție de acizi biliari în circulația portală, nivelul acestora crește în circulația sistemică de 3-4 ori față de valorile bazale în cazul unei insuficiențe hepatice, pe când la normali creșterile postprandiale sunt abia schițate.

Așa cum s-a arătat în capitolul precedent, prin separarea cromatografică a acizilor biliari serici se poate evidenția că în cazurile de colestază cresc mai ales acizii biliari primari (colic și chenodeoxicolic), pe când în insuficiența hepatică se ajunge la o creștere predominantă a acizilor biliari secundari (deoxicolic) care, reabsorbiți din intestin dar necaptați de hepatocite, ajung în circulația sistemică (vezi și cap.4) (10,15,16).

5.4.3. CREȘTEREA BILIRUBINEI CONJUGATE

Așa cum s-a arătat în capitolul anterior, creșterea bilirubinei conjugate este întâlnită în caz de icter mecanic, în caz de perturbare a fluxului biliar apos și implicit în cazurile de colestază intrahepatică, precum și ca urmare a dezorganizării citoarhitectonicii ficatului, a necrozei cordonelor de hepatocite și a stabilirii de comunicări între canaliculele biliare și capilarele sanguine.

Ca urmare, creșterea bilirubinei conjugate nu este o manifestare specifică colestazei și poate surveni în caz de agravare a unei hepatite cronice sau a unei ciroze și evident în cazul unei hepatite virale acute.

De precizat că în stadiile inițiale ale unei colestaze intrahepatice nivelul acizilor biliari este relativ mai ridicat decât nivelul bilirubinei directe, a cărei creștere este abia schițată, iar pigmentii biliari (bilirubina) nu pot fi detectați în urină cu metode de rutină.

Pe de altă parte, în caz de icter mecanic cauzat de o obstrucție totală a canalului coledoc, nivelul bilirubinei conjugate poate ajunge la valori de 10-20 mg/dl ($170-340 \mu\text{mol/l}$), iar aceasta se elimină prin urină care devine colurică (pigmenți biliari pozitiv), materiile fecale sunt decolorate, iar urobilinogenul dispare din urină.

În cazurile în care creșterea bilirubinei conjugate și urinile colorice sunt singurele anomalii decelabile, acizii biliari precum și activitatea γ GT și ALP fiind în limite normale, se poate bănuî o anomalie cu caracter genetic a mecanismelor care asigură eliminarea în bilă a bilirubinei conjugate (sindrom Dubin-Johnson, sau sindrom Rotor) (3,10,22,23).

5.4.4. LIPOPROTEINA X

Creșterea colesterolului liber și a lecitinei la bolnavii cu fenomene de colestază duce la formarea unei lipoproteine particulare denumită lipoproteina X (vezi cap.1) care mai apare doar în deficitul familial de LCAT (vezi cap.1). S-a arătat că nivelul plasmatic de LpX este evident mai ridicat la bolnavii cu colestază extrahepatică (în medie 158 mg/dl) decât la cei cu colestază intrahepatică (în medie 25 mg/dl). Deși prin determinările de LpX s-ar putea diferenția mai net colestazele extrahepatice față de cele intrahepatice această explorare se practică rar în laboratoarele clinice, întrucât dozările cantitative implică dificultăți tehnice (17).

5.5. EXPLORĂRI CU ROL DE PRECIZARE A ETIOLOGIEI UNOR BOLI HEPATICE

Diagnosticul complet al unei suferințe hepatice implică și stabilirea în măsura posibilului a factorilor etiologici. Prezentarea detaliată a factorilor etiologici ar implica incursiuni în domeniul virusologiei, imunologiei, toxicologiei și a științelor din domeniul nutriției și metabolismului intermediar. Prezentul volum se va limita la prezentarea unui tabel care să includă factorii etiologici incriminați în producerea bolilor hepatice (vezi tab.5.3).

Tabel 5.3.

Factorii etiologici incriminați în producerea bolilor ficatului

-
- | |
|--|
| A. Factori infecțioși (implicând și reacție imună) |
| a. Infecții virale |
| - Hepatitele virale A, B, C |
| - Mononucleaza infecțioasă, febra galbenă, hepatita neonatală dată de variate virusuri |
| b. Infecții bacteriene: leptospiroza, bruceloza, lues, tuberculoza |
| c. Infecții micotice: actinomicoză, histoplasmoză |
| d. Infecții cu protozoare: amebiază, malarie |
| e. Infestații cu helminți: schistosomiază, chist hidatic |
| B. Factori toxici: |
| ciuperci, alcool, Cl_4C , halotan, tiomazol, clorpromazină, contraceptive orale, PAS, izoniazidă |
| C. Factori nutriționali: |
| carența de proteine (Kwashorkor), carența de vitamine |
| D. Factori metabolici (erori înnașcute de metabolism): |
| glicogenoze, galactozemie, porfirii, boala Gaucher, Boala Wilson, deficitul de α_1 antitripsină (fenotipul Piz), boala Byler (colestaza intrahepatică progresivă) |
| E. Factori carcinogeni: aflatoxine (din mucegaiuri), nitrozamine |
| F. Factori circulatori: insuficiență cardiacă - ficat de stază |
| G. Factori încă necunoscuți. |
-

Pe de altă parte se consideră necesar a se prezenta datele recente privind implicarea citokinelor în patologia ficatului și unele aspecte noi referitoare la fiziopatologia biochimică a fibrozei hepatice.

5.6. ROLUL CITOKINELOR ÎN BOLILE FICATULUI

Rolul citokinelor în patologie reprezintă un domeniu în plină dezvoltare, iar datele privind numărul acestor mediatori endogeni, precum și cele privind efectele lor și interacțiunile dintre ele, se acumulează în progresie geometrică.

Deși o producție controlată de citokine contribuie la apărarea organismului și la repararea țesuturilor, excesul de citokine proinflamatorii poate duce la lezarea țesuturilor și la fibroză.

Se știe că astfel de citokine cum sunt interleukina-1 (IL-1), factorul de necroză a tumorilor (TNF) și interleukina-6 (IL-6) intervin în declanșarea reacției de fază acută, iar ficatul stimulat de acești mediatori și mai ales de către IL-6 sintetizează și secretă așa-zisele proteine de fază acută: α_1 antitripsină, fibrinogen, proteina C reactivă. Există și o serie de observații care sugerează că ficatul ar fi o sursă importantă de citokine, fiind însă și principalul organ care asigură îndepărtarea citokinelor din circulație.

Așa cum este de așteptat, monocitele și limfocitele infiltrate în interstițiul ficatului produc IL-6 și TNF- α , iar aceste citokine modulează reacțiile inflamatorii și imune care survin în bolile cronice ale ficatului (21).

Mai surprinzătoare sunt constatările privind producerea de IL-6 în culturile de celule ale hepatoamelor umane și chiar în culturile primare de hepatocite (21). S-a mai arătat că în urma stimulării de către citokinele proinflamatorii, lipocitele situate în spațiile perisinusoidale ale ficatului elaborează factor de creștere transformant (TGF- β), o citokină care joacă un rol important în fibrogeneză.

Deși gradul de contribuție al diferitelor celule din ficat la producerea de citokine este încă incert, s-au adus dovezi certe privind creșterea TNF, IL-6 și a altor citokine în plasma bolnavilor cu hepatită cronică, ciroză hepatică, precum și în cazuri de insuficiență hepatică fulminantă.

Astfel de creșteri pot fi cauzate atât de o producție sporită în cursul puseurilor inflamatorii, cât și de o scădere a proceselor de clearance hepatic al citokinelor, atunci când se instalează o insuficiență hepatică.

Se pot emite ipoteze privind modul în care excesul de citokine sau o acțiune prelungită a acestora ar putea duce la lezarea funcțiilor hepatice. În timp ce o acțiune direct nocivă asupra parenchimului hepatic este mai greu de dovedit, există indicii asupra unui efect mediat prin intermediul endoteliilor vasculare și prin stimularea fibrogenezei (21).

De fapt citokinele proinflamatorii induc proteine de adeziune în celulele endoteliale, favorizându-se aderarea și diapedeza leucocitelor și în special a monocitelor în interstițiile organului. Același citokine produc expunerea de factor tisular la suprafața celulelor endoteliale, ceea ce în anumite condiții de scădere a mecanismelor anticoagulante ar putea favoriza producerea de trombi în capilarele sinusoidale, afectând nutriția și oxigenarea celulelor parenchimatoase (21). Se pare însă că principalul mecanism intermediar între producerea de citokine și suferința hepatocitelor este reprezentat de stimularea fibrozei hepatice (13). Pe de altă parte, administrarea terapeutică a interferonului (IFN- α) exercită efecte favorabile în hepatitele virale cronice, probabil limitând proliferarea celulelor implicate în inflamație și reducând fibroza, pe lângă acțiunea sa antivirală (28).

5.7. FIZIOPATOLOGIA BIOCHIMICĂ A FIBROZEI HEPATICE

Conform unei definiții date de experții OMS, ciroza hepatică ar putea fi definită ca fiind "un proces difuz caracterizat prin fibroză și transformarea arhitecturii normale a ficatului în noduli anormal structurați". De fapt, principalele reacții patologice implicate în dezvoltarea cirozei hepatice pot fi astfel sistematizate:

- a. necroza hepatocitelor, care pare a fi (cu unele excepții) procesul inițiator și perpetuant și care este urmat de inflamație;
- b. regenerarea hepato-celulară;
- c. fibroză;
- d. dezorganizarea arhitecturii lobulare cu generarea de pseudolobuli în întreg parenchimul hepatic.

La rândul ei, fibroza hepatică include o complexitate de modificări ale matricei extracelulare a ficatului. Astfel de modificări includ:

- 1) o creștere de 3-6 ori a moleculelor matricei extracelulare (colagen, proteoglicani, glicoproteine);
- 2) o creștere disproporționată a diverselor subtipuri de molecule individuale ale matricei extracelulare. De exemplu, colagenul de tip I crește proporțional mai mult decât alte tipuri de colagen, iar dintre proteoglicani, creșterea dermatansulfatului este predominantă;
- 3) apariția unor modificări subtile ale microcompoziției diferitelor tipuri de molecule ale matricei extracelulare. Astfel de modificări pot afecta gradul de hidroxilare a lanțurilor de colagen sau gradul de sulfatare a proteoglicanilor.
- 4) o redistribuire topografică a matricei extracelulare în ficatul lezat ceea ce duce la o acumulare de țesut conjunctiv localizat subendotelial mai ales în spațiul Disse (fibroză perisinusoidală).

Se consideră că tocmai această fibroză perisinusoidală ar reprezenta mecanismul prin care se ajunge la suferința parenchimului, deoarece se perturbă difuzarea oxigenului și substranțelor nutritive spre hepatocite și se reduce fluxul sanguin intrasinusoidal. Necroza consecutivă a hepatocitelor poate antrena un proces inflamator care aduce după sine fibroza, instituindu-se astfel un cerc vicios (vezi fig.5.6.) (13).

Principalele probleme ridicate de un astfel de proces se referă la tipul de celule implicate în fibrogenză și la mecanismele prin care astfel de celule ajung să producă un exces de molecule (modificate) în matricea extracelulară a ficatului. Prin tehnici de izolare și de cultivare a diferitelor tipuri de celule din ficat s-a putut ajunge la o mai bună cunoaștere a distribuției cantitative a acestor tipuri de celule și s-a încercat o evaluare a rolului lor în patogeniza fibrozei hepatice.

Astfel, hepatocitele reprezintă 65% din numărul relativ de celule din ficat, iar restul de 35% este alcătuit din diferite tipuri de celule sinusoidale neparenchimatoase, între care sunt de menționat celulele endoteliale, celulele Kupffer și așa-zisele lipocite. Acestea din urmă, cunoscute și sub denumirea de celule parasinusoidale sau celule de stocare a vitaminei A, sunt localizate în spațiile Disse, cuibărite în recesurile dintre hepatocitele adiacente (vezi fig.5.7) și reprezintă principalele producătoare de țesut conjunctiv în ficatul lezat. De fapt, sub acțiunea diverselor citokine generate în cursul inflamației de către limfocite, monocite și celule Kupffer (macrofagele ficatului), lipocitele se transformă în celule de tip miofibroblastic, proliferază și sintetizează activ un spectru larg de componente ale matricei extracelulare, între care sunt de menționat colagenul (mai ales tip I), proteoglicanii și fibronectina. S-a mai precizat că principalul agent care determină activarea lipocitelor este factorul de creștere transformant (Transforming Growth Factor, TGF- β), provenit din diverse surse cum ar fi celulele

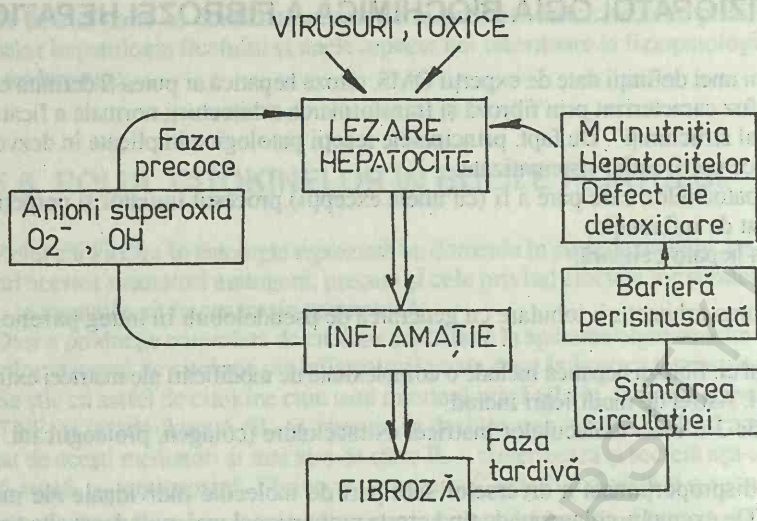


Fig.5.6. Mecanism în cerc vicios al proceselor care duc la fibrogenza hepatică. În faza precoce producții celulelor inflamatorii (radicali superoxid și proteaze) induc leziuni ale hepatocitelor, sumându-se cu efectul agenților nocivi exogeni. Aceste leziuni pot ajunge până la necroza celulară care inițiază fibrogenza. În faza tardivă, depunerea în exces a matricei extracelulare în spațiile Disse (perisinusoidal) perturbă difuziunea substanțelor nutritive spre hepatocite și reduce funcția antitoxică a ficatului.

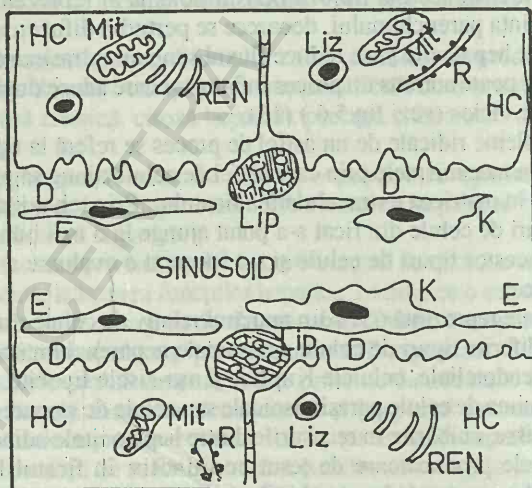


Fig.5.7. Localizarea lipocitelor (Lip.) în recessurile unor celule hepatice parenchimatoase (HC) adiacente. Lipocitele, cunoscute și sub denumirea de celule de stocare a vitaminei A, sau de celule Ito, se află în contact direct atât cu hepatocitele cât și cu spațiile perisinusoidale ale ficatului (spații Disse-D); E = celule endoteliale; C = celule Kupffer; Mit = mitocondrii; Liz = lizozomi; REN = reticul endoplasmatic neted; R = ribozomi.

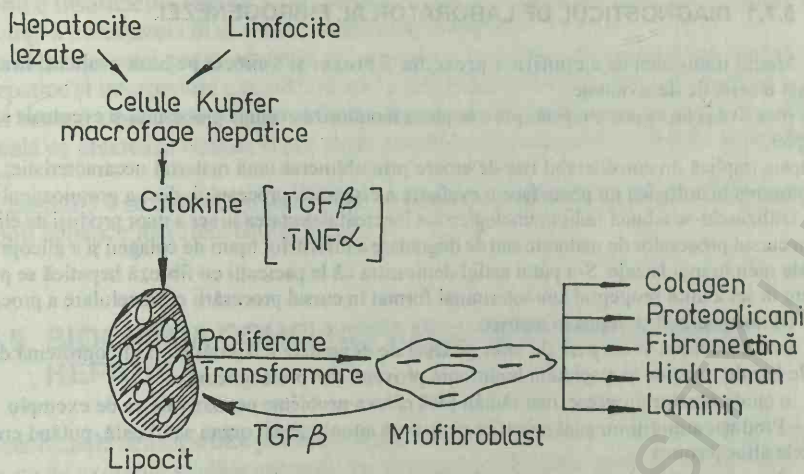


Fig.5.8. Sub acțiunea citokinelor proinflamatorii, ca de exemplu factorul de necroză a tumorilor ($TNF-\alpha$), și mai ales sub acțiunea factorului de creștere transformant (Transforming Growth Factor β - $TGF\beta$), lipocitele din spațiile perisinusoidale se transformă în celule de tip miofibroblast capabile să secrete diverse componente ale matricei extracelulare, precum și $TGF\beta$, care exercită un efect de feed-back pozitiv. La activarea lipocitelor contribuie endoteliile, celulele Kupfer, hepatocitele în curs de regenerare și plăcuțele sanguine, precum și stimuli imuni proveniți din anumite limfocite.

Kupffer, celulele endoteliale, plăcuțele sanguine, hepatocitele în curs de regenerare (dar nu și cele normale). Chiar și celulele de tipul miofibroblastelor provenite din lipocitele activate capătă proprietatea de a secreta $TGF\beta$, creându-se astfel un mecanism de feed-back pozitiv autocrin (vezi fig.5.8). Pe de altă parte, hepatocitele normale secretă proteine care pot lega și neutraliza $TGF\beta$, modulând activitatea semnalelor de creștere și diferențiere a lipocitelor.

Stimularea sintezei de molecule ale matricei extracelulare de către lipocitele transformate, se poate produce și sub acțiunea acetaldehidei, derivate din alcool în hepatocite, precum și sub acțiunea produșilor de peroxidare a lipidelor. Complexitatea interacțiunilor dintre fibrogenză și inflamație este ilustrată și de observațiile conform cărora celulele de tipul miofibroblastelor (derivate din lipocitele activate) sunt capabile de a secreta citokine proinflamatorii ca, de exemplu, IL-6, factorul 1 de stimulare a coloniilor (CSF-1), și factor de creștere de tip insulinic (IGF-1).

Acumularea de țesut conjunctiv depinde nu numai de o creștere a producerii de colagen, proteoglicani și glicoproteine, dar și de o reducere a proceselor de degradare a matricei extracelulare. La ora actuală există încă doar puține date privind intervenția metaloproteinazelor (colagenază, gelatinază, stromelizin) în procesul de remanierare a matricei extracelulare din interstițiul ficatului. Se știe astfel că stromelizina poate degrada fibronectina, laminina, colagenul și o serie de proteoglicani, dar că ficatul este lipsit de enzimele lizozomale care degradează dermatansulfatul (proteoglicanul care se acumulează cel mai mult în cursul fibrozei hepatice) (13).

5.7.1. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL FIBROGENEZEI

Modul tradițional de a confirma prezența fibrozei și a cirozei pe baza evaluării histologice prezintă o serie de dezavantaje:

- a) este invazivă și nu se poate repeta spre a se putea monitoriza evoluția procesului și eventuala eficacitate a terapiei;
- b) biopsia implică un considerabil risc de eroare prin obținerea unui material necaracteristic;
- c) explorarea histologică nu poate face o evaluare a dinamicii procesului, deci a prognosticului.

Utilizându-se tehnici radioimunologice s-a încercat detectarea în ser a unor produși de clivare formați în cursul proceselor de maturare sau de degradare a diferitelor tipuri de collagen și a glicoproteinelor asociate membranei bazale. S-a putut astfel demonstra că la pacienții cu fibroză hepatică se produce o creștere în ser a unui propeptid aminoterminal format în cursul procesării extracelulare a procologenu-ului tip III nou secretat și depus în matrice.

S-au evidențiat și creșteri ale unor produși de degradare a lamininei, o glicoproteină din membranele bazale, precum și a acidului hialuronic provenit din proteoglicani.

În ciuda acestor progrese, mai rămân încă câteva probleme nerezolvate ca de exemplu:

- Produșii amintiți nu sunt specifici pentru un anumit țesut, organ sau boală, putând crește și în fibrozele altor țesuturi.

- Nu s-a putut încă preciza în ce măsură creșterea acestor markeri este o consecință a sintezei accelerate de proteine sau glicoproteine din matricea extracelulară sau apar ca rezultat a unor perturbări a vitezei de catabolizare sau de eliminare.

- Nu sunt suficiente de bine elucidate căile prin care compuşii derivați din țesutul conjunctiv al ficatului ajung în circulația sistemică.

Efectuate seriat la diferite intervale de timp și interpretate în lumina datelor clinice și în ansamblul datelor de laborator explorările mai sus menționate pot totuși furniza relații asupra procesului de fibroză (14).

5.8. EVALUAREA CRITICĂ A EXPLORĂRILOR BIOCHIMICE ÎN BOLILE FICATULUI

Problemele legate de interpretarea diferitelor teste de explorare a ficatului, în variate forme clinice și variante ale bolilor acestui organ, se pretează la ample discuții. Este suficient să amintim că în hepatologia clinică editată de Kühn și Wernze (17), probele funcționale, scrise de 28 de colaboratori, însumează 128 de pagini. Deși relativ restrâns, materialul prezentat în acest capitol, coroborat cu datele prezentate în capitolele 2, 3 și 4 referitoare la proteinele plasmatică, la patologia enzimelor și a biochimiei secreției biliare, este totuși în măsură să orienteze cititorul în privința posibilităților de detectare prin explorări biochimice a principalelor sindroame care survin în bolile ficatului. De notat că aceste explorări se întregesc prin utilizarea metodelor imagistice, prin explorări imunoclimice și prin investigații de histopatologie.

Din motive didactice, diversele teste de explorare a ficatului au fost sistematizate în 4 grupe, în funcție de procesul patologic pe care îl decelează cu predominanță. Ca și în cazul oricărei tentative de clasificare, cea din prezentul volum are un caracter relativ. Așa de exemplu, un proces inflamator cronic poate duce atât la o infiltrație limfoplasmocitară și implică la creșterea imunoglobulinelor, cât și la modificări ale permeabilității membranei hepatocitelor. Totodată, ca urmare a producerii și eliberării de citokine proinflamatorii, are loc o "comutare" a sintezei de proteine, prin care creșterea unor proteine de fază acută se asociază cu scăderea nivelului seric al altor proteine de secreție hepatică cum sunt albumina și colinesteraza. Scăderea acestor proteine și enzime de secreție hepatică nu implică deci în mod

obligatoriu o insuficiență hepatică. De asemenea, creșterea acizilor biliari în ser poate fi atât o consecință a colestazei cât și a unei insuficiențe hepatice.

Nu este însă mai puțin adevărat că urmărirea în dinamică a diferitelor categorii de probe hepatice și interpretare a rezultatelor în lumina datelor clinice și imagistice sunt de regulă în măsură să prezinte o imagine destul de aproape de realitate a fenomenelor ce au loc într-o boală ce afectează ficatul, și pot chiar contribui la o clasificare biochimică a bolilor hepatice.

În tabelul 5.4 se încearcă o prezentare sinoptică a comportării probelor de laborator în câteva boli hepatice mai frecvent întâlnite.

5.9. BIOCHIMIA COMEI HEPATICE. ENCEFALOPATIA HEPATICĂ

Fenomenele neuropsihice pot surveni atât în cursul agravării unei insuficiențe hepatice cronice, ca de exemplu stadiile avansate ale unei ciroze decompensate parenchimatose, cât și ca urmare a unei insuficiențe hepatice fulminante. Aceasta poate apare în cadrul unei hepatite acute virale, sau în urma unei supradozări de paracetamol, precum și unele cazuri de anestezie cu halotan.

Diagnosticul clinic nu este dificil atunci când, în cazul unui bolnav cu icter pronunțat, se constată o alterare rapidă a stării de cunoștință. Nu trebuie uitat însă că în unele cazuri encefalopatia poate precede icterul.

Proble de laborator indică o creștere accentuată a transaminazelor (ASAT, ALAT) și o prelungire evidentă a timpului de protrombină. Așa cum s-a arătat anterior, în cazurile supraacute, activitatea colinesterazei serice, o enzimă cu un timp de înjumătățire relativ lung (10-14 zile), nu ajunge să scadă la valori corespunzătoare gravității insuficienței hepatice.

Se constată însă hipoglicemie, consecutivă atât deficitului de captare și inactivare hepatică a insulinei, cât și mai ales insuficienței proceselor de glicogenoliză și gluconeogeneză, apărute ca o consecință directă a necrozei hepatice masive. La acestea se adaugă anomalii complexe ale electroliților plasmatici (hiponatremie, hipopotasemie) și ale echilibrului acidobazic (vezi cap. 8), iar frecvența alterare concomitentă a funcției renale duce la creșterea în sânge a ureei și a creatininei.

Patogeneza encefalopatiei hepatice se datorează însă mai ales retenției în circulație a unor toxice endogene particulare. Așa cum s-a arătat anterior, creșterea în sânge a amoniacului a fost mult timp considerată ca fiind principala cauză a encefalopatiei hepatice. De fapt, injectarea animalelor de experiență cu săruri de amoniu duce la comă reversibilă, iar administrarea, pe cale orală, de uree, săruri de amoniu sau chiar o dietă deosebit de bogată în proteine pot precipita coma la animalele cu șunt porto-cav sau la bolnavii cu ciroză hepatică. Pe de altă parte, nu s-a putut stabili o corelație între nivelul amoniei și gravitatea encefalopatiei hepatice (cunoscută și sub denumirea de encefalopatie portală).

În ultimii ani se insistă asupra rolului jucat de creșterea nivelului plasmatic de aminoacizi și în special de valorile mult crescute ale acizilor aminați aromatici (fenilalanină, tirozină). Prin trecerea acestor aminoacizi în creier și în urma decarboxilării lor rezultă tiramină și feniletanolamină, care, având o structură analoagă adrenalinei, interferează la nivelul mediației adrenergice.

La tiramină și feniletanolamină produse în creier, se adaugă compuși rezultați în intestin prin decarboxilarea acizilor aminați aromatici, sub acțiunea florei microbiene. Deoarece

Reprezentarea schematică a comportării principalelor teste biochimice de explorare a ficatului în câteva boli hepatice mai frecvent întâlnite. Prescurtări folosite: ASAT = aspartataminotransferază; ALAT = alaninaminotransferază; LDH = lactatdehidrogenază; GLDH = glutamatdehidrogenază; CHE = colinesterază; Fact. coag. = factorii complexului protrombincic; ALP = fosfataza alcalină; γ GT = gama glutamiltransferază; Alb. = albumină serică; Ac.Bil. = acizi biliari serici; Bilirub. = bilirubina serică; Clear Ap. = clearance antipirine; LpX = lipoproteina X; N = în limite normale.

Natura bolii	Imunoglobuline	Teste de creștere a permeabilității membranelor	Indicatori ai funcției	Indicatori ai colestaziei	Observații
Hepatită acută	IgG: N- \uparrow IgA: N- \uparrow IgM: $\uparrow\uparrow$	ASAT: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ ALAT: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ GLDH: \uparrow - $\uparrow\uparrow$	Alb: N- \downarrow CHE: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Fact. Coag: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Clear Ap: nu se face	ALP: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ γ GT: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ Bilirub.: N- $\uparrow\uparrow$	Forme de gravitate diferită. Se va căuta precizarea etiologiei (Ag HBe etc.)
Inoxidație acută (CLC, ciuperci etc.)	Puțin modificate	ASAT: $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ ALAT: $\uparrow\uparrow\uparrow$ LDH: $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ GLDH: $\uparrow\uparrow\uparrow$	Alb: N- \downarrow CHE: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Fact. Coag: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Clear Ap: nu se face	ALP: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ γ GT: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ Bilirub.: $\uparrow\uparrow$	Analiza toxicologică. Anchetă la locul de muncă. Informații de la apăratori
Hepatită cronică progresivă	IgG: $\uparrow\uparrow\uparrow$ IgA: $\uparrow\uparrow$ IgM: $\uparrow\uparrow$	ASAT: $\uparrow\uparrow\uparrow$ ALAT: $\uparrow\uparrow$ GLDH: $\uparrow\uparrow$	Alb: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ CHE: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Fact. Coag: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Clear Ap: \downarrow - $\downarrow\downarrow$	ALP: $\uparrow\uparrow$ γ GT: $\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: $\uparrow\uparrow$ Bilirub.: N- $\uparrow\uparrow$	Agravări corespunzând unor puseuri necrotice. Se va prezenta etiologia
Hepatită cronică persistentă	IgG: \uparrow IgA: \uparrow IgM: N- \uparrow	ASAT: N- \uparrow ALAT: N- \uparrow GLDH: N- \uparrow	Alb: N CHE: N- \downarrow Fact. Coag: N Clear Ap: N	ALP: N γ GT: N- \uparrow Ac.Bil.: N- \uparrow Bilirub.: N	Nu se exclude riscul trecerii într-o formă activă
Alcoolism cronic	IgG: N- \uparrow IgA: \uparrow - $\uparrow\uparrow$ IgM: N- \uparrow	ASAT: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ ALAT: \uparrow - $\uparrow\uparrow$ GLDH: N- \uparrow	Alb: N CHE: variabil Fact. Coag: N Clear Ap: N	ALP: \uparrow γ GT: $\uparrow\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: N- \uparrow Bilirub.: N- \uparrow	Steatoză hepatică. Aminotransferazele cresc în puseuri în legătură cu abuzul de alcool, când și Ac.bil. și bilirub. cresc. Evoluție spre ciroză
Ciroză decompensată	IgG: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ IgA: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ IgM: \uparrow - $\uparrow\uparrow$	ASAT: N- $\uparrow\uparrow$ ALAT: N- \uparrow GLDH: N- \uparrow	Alb: \downarrow CHE: $\downarrow\downarrow$ - $\downarrow\downarrow\downarrow$ Fact. Coag: \downarrow - $\downarrow\downarrow$ Clear Ap: $\downarrow\downarrow$ - $\downarrow\downarrow\downarrow$	ALP: \uparrow γ GT: \uparrow - $\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ Bilirub.: \uparrow - $\uparrow\uparrow$	Variații în funcție de puseuri evolutive (necrotice) când ASAT > ALAT iar icterul se accentuează
Colestază intrahepatică (ciroză biliară)	IgG: \uparrow - $\uparrow\uparrow\uparrow$ IgA: \uparrow - $\uparrow\uparrow$ IgM: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$	ASAT: \uparrow - $\uparrow\uparrow$ ALAT: \uparrow - $\uparrow\uparrow$ GLDH: \uparrow - $\uparrow\uparrow$	Alb: \downarrow CHE: \downarrow Fact. Coag: \uparrow Clear Ap: \downarrow - $\downarrow\downarrow$	ALP: $\uparrow\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ γ GT: $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: $\uparrow\uparrow\uparrow$ Bilirub.: \uparrow - $\uparrow\uparrow\uparrow$	Evoluție destul de lungă. Creșteri ale Cx, haptoglobinei, ceruloplasminei AT III, inhibitorii fibrinolizei a α AT LpX: +
Colestază extrahepatică (icter mecanic)	IgG: N- \uparrow IgA: N- \uparrow IgM: N- \uparrow (neconcludent)	ASAT: N- $\uparrow\uparrow$ ALAT: N- \uparrow GLDH: N- \uparrow	Alb: \downarrow CHE: $\downarrow\downarrow$ Fact. Coag: N- $\downarrow\downarrow$ Clear Ap: N- $\downarrow\downarrow$	ALP: $\uparrow\uparrow\uparrow$ γ GT: $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: $\uparrow\uparrow\uparrow$ Bilirub.: \uparrow - $\uparrow\uparrow\uparrow$	Probleme funcționale se alterează dacă obstrucția persistă, factorii coagulării pot fi inițial normali sau chiar creșteți dar scad când survine un deficit de Vit.K. Se va căuta etiologia (neoplasm de cap de pancreas, calculi) LpX: +++
Procese tumorale hepatice (primitive sau metastatice)	IgG: N- \uparrow IgA: N- \uparrow IgM: N- \uparrow (neconcludent)	ASAT: N- $\uparrow\uparrow$ ALAT: N- \uparrow GLDH: N- \uparrow (neconcludent)	Alb: N- \downarrow CHE: N- \downarrow Fact. Coag: N- \uparrow - \downarrow Clear Ap: N- \downarrow - \uparrow (neconcludent)	ALP: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow$ γ GT: $\uparrow\uparrow$ - $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ Ac.Bil.: N- \uparrow Bilirub.: N- \uparrow	Nu se referă la neoplasmul care evoluează cu icter mecanic. ALP și γ GT cresc progresiv de la o examinare la alta. În adenocarcinomul hepatic creșterea α -fetoproteinei. Se recurge la explorări imagistice ale ficatului și explorarea radiologică a tubului digestiv.

ficatul insuficient nu poate capta și degrada aminele aromatice absorbite din intestin, concentrația acestora va crește în sânge. Remarcabilă este observația conform căreia scăderea concentrațiilor plasmatic de fenilalanină și tirozină precede revenirii stării de cunoștință a bolnavilor cu encefalopatie hepatică supuși hemodializei. S-a incriminat și rolul patogen al altor metaboliți. Așa de exemplu, nivele plasmatic crescute de metionină ar favoriza producerea de mercaptani, iar insuficiența hepatică se însoțește de regulă și de creșteri ale concentrațiilor serice de acizi grași liberi și de acizi biliari. Este mai probabil că diversele anomalii metabolice mai sus semnalate se sumează și își potențează reciproc efectele (27).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Adolph L., Lorenz R. Enzyme diagnosis in diseases of the heart, lung, liver and pancreas. S.Karger - Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 1982.
2. Bedeleanu D., Trif I., Lötsch I.C., Cucuianu M. Increased values of antipyrine in type IV hyperlipoproteinemia. *Rev.Roum.Med.Int.*, 1986, 24, 183-190.
3. Berk P.D., Javitt N.B. Hyperbilirubinemia and cholestasis. *Amer.J.Med.*, 1978, 64, 311-326.
4. Cederblad G., Korsan-bengtson K., Olsson R. Observation of increased levels of blood coagulation factors in cholestatic liver disease. *Scand.J.Gastroenterol.*, 1976, 11, 391-396.
5. Cucuianu M., Hărăguș S., Popescu T.A. Pseudocolinesteraza serică și funcția proteosintetică a ficatului. *Stu. Cerc. Med.Int.*, 1969, 10, 15-28.
6. Cucuianu M., Zdrenghia D., Pop M., Opincaru A. Increased serum γ -glutamyltransferase in hypertriglyceridemia; comparison with serum pseudocholinesterase. *Clin.Chim.Acta*, 1976, 71, 419-427.
7. Cucuianu M., Opincaru A., Tapalagă D. Similar behaviour of lecithin cholesterolacyl transferase and pseudocholinesterase in liver disease and hyperlipoproteinemia. *Clin. Chim.Acta*, 1978, 85, 73-79.
8. Cucuianu M., Vlaicu R., Popescu T.A., Hoinărescu E., Pintea L., Costin-Pușcaș M., Pop M. Behaviour of γ -glutamyltransferase in chronic consumers of alcohol. *Rev.Roum.Med.Int.*, 1980, 18, 189-195.
9. Cucuianu M., Trif I., Cucuianu A. Hemostaza. Biochimie, Fiziopatologie. Clinică, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1994.
10. Fausa O., Gjone F. Serum bile acid concentration in patients with liver disease. *Scand.J.Gastroenterol.*, 1976, 11, 537-543.
11. Goedde H.W., Doenicke A., Altland K. Pseudocholinesterasen (pharmakogenetik, Biochemie, klinik). Ed. Springer - Berlin, heidelberg, New York, 1967.
12. Goldberg D.M. Structural, functional and clinical aspects of γ -glutamyltransferase. *Critical Review in Clinical Laboratory Sciences* 1980, 12, 1-58.
13. Gressner A.M. Liver fibrosis: perspectives in pathobiochemical research and clinical outlook. *Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem.*, 1991, 29, 293-311.
14. Gressner A.M., Tittor W., Negwer A., Pick-Kober K.H. Serum concentration of laminin and aminoterminal propeptide of type III collagen in relation to portal venous pressure of fibrotic liver disease. *Clin.Chim.Acta.*, 1986, 161, 249-258.
15. Grigorescu M., Tapalagă D., Dumitrașcu D. Patologia clinică a acizilor biliari Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1983.
16. Iwamura K. Bile acid metabolism and liver disease. *Das Medizinische Prisma*; 1982, 3, 1-27.
17. Kühn H.A., Wernze H. Klinische Hepatologie. Ed.G.Thieme, Stuttgart, 1979.
18. Mendenhall C.L., Weesner R.E. Alcoholism, in Kaplan and Pesce (editors): Clinical Chemistry. Ed.C.V.Mosby; St.Louis-Toronto-Princeton, 1984, 595-610.
19. McIntire: the liver, in Williams and Marks (Editors): Biochemistry in Clinical Practice. W.Heinemann Medical Books, London, 1983, pp.139-154.
20. Mircea P., Cucuianu M., Mădărușan Vulcan G., Vlaicu R. Value of gamma-glutamyltransferase in the diagnosis of liver metastases. *Rev.Roum.Med.Int.*, 1981, 19, 339-345.

21. Paramo J.A., Rocha E. Hemostasis in advanced liver disease. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1993, 19, 184-190.
22. Sherlock S. *Diseases of the liver and biliary system*. Ed. Blackwell, London, 1975.
23. Skrede S., Blomhoff I.P., Gjone E. Biochemical features of acute and chronic hepatitis. *Annals of Clinical Research*, 1976, 8, 182-199.
24. Spoelstra P. Antipyrine metabolism in liver disease. Doctoral Thesis, University of Leiden, 1986.
25. Szantay I., Cotul O., Gidali M. La détermination de la demi-vie (T/2) de la Se-methionine du sang et l'étude de la vitesse de son incorporation dans les protéines plasmatiques. *Rev.Int.Hepatol.*, 1968, 18, 683-688.
26. Tapalagă T., Opincaru A., Cucuianu M. Hepatic secretion enzymes and electrophoretic lipoprotein fractions in liver disease. *Acta Hepato-Gastroenterol.*, 1979, 26, 9-16.
27. Silk D.B.A., Williams R. Clinical Biochemistry of the artificial liver. In Williams and Marks (Editors). *Biochemistry in Clinical practice*. William Heinemann medical book limited. London, 1983, 164-173.
28. Borden E.C., Ball A.L. Interferons: Biochemical cell growth inhibitory and immunological effects; in *Progress in Haematol.* 1985, pp 299-336.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliți corespondența între grupele de analize de mai jos și procesul patologic pe care îl reflectă cu predominanță:

A. Creșterea imunoglobulinelor a fracțiunii electroforetice γ , pozitivarea testelor de disproteinemie	I. Creșterea permeabilității membranei hepatocitelor
B. Creșterea aminotransferazelor (ASAT, ALAT)	II. Alterarea funcției proteosintetice a ficatului
C. Creșterea activității serice a fosfatazei alcaline și a γ -glutamiltransferazei	III. Infiltrație limfoplasmocitară în interstițiul ficatului
D. Scăderea colinesterazei serice și a nivelului plasmatic al factorilor coagulării dependenți de vitamina K	IV. Proces de colestază

2. Creșterea γ -globulinelor la valori de peste 30% din proteinele totale ale serului se poate întâlni în:

- A. Ciroza hepatică
- B. Endocardita infecțioasă
- C. Poliartrita reumatoidă
- D. Hepatita cronică progresivă
- E. În toate aceste situații
- F. În nici una.

3. Raportul De Ritis reprezintă:

- A. Raportul ASAT/ALAT
- B. Raportul fosfatază alcalină/ γ GT
- C. Raportul colinesterază/factor VII al coagulării.

4. În care din situațiile de mai jos se constată cele mai mari creșteri ale ASAT, ALAT, GLDH și LDH 4-5:

- A. Ciroză hepatică
- B. Hepatită cronică stabilizată
- C. Infarct miocardic
- D. Intoxicație cu ciuperci sau cu CCl_4 .

5. Creșterea mai exprimată a ALAT față de ASAT într-o hepatită acută de gravitate moderată se datorează:

- A. Faptului că timpul de înjumătățire în plasmă (T/2) al ALAT este mai prelungit decât cel al ASAT
- B. Faptului că ALAT se află într-o concentrație mai mare în hepatocitele de la periferia lobulului hepatic
- C. Faptului că ALAT este localizat doar în citoplasmă, pe când ASAT se află atât în citoplasmă cât și în mitocondrii.
- D. Toate aceste explicații sunt valabile
- E. Nici una.

6. Creșterea exprimată a fosfatazei alealine și a γ GT la un bolnav cu icter mecanic se poate datora:

- A. unui proces de inducere microsomală
- B. efectului dizolvant al acizilor biliari reținuți în sânge asupra membranei lipoproteice a hepatocitelor
- C. ambele explicații sunt plauzibile
- D. nu există încă o explicație acceptabilă.

7. În care din situațiile de mai jos nu se constată de regulă o scădere a activității colinesterazei serice ci dimpotrivă o creștere a acestei enzime:

- A. ciroză hepatică decompensată parenchimatos
- B. intoxicație cu organofosforice
- C. anemie megaloblastică
- D. mixedem
- E. reacție de fază acută
- F. sindrom nefrotic
- G. obezitate androidă

8. Bolnav de 68 de ani cu ficat mărit, neregulat, la care aminotransferazele sunt ușor crescute (1,5-2 ori limita superioară a normalului); testele de disproteinemie în limite normale; colinesteraza serică la limita inferioară a normalului; fosfataza alcalină și γ GT mult crescute (5 ori și respectiv 10 ori limita superioară a normalului) și având tendința de creștere progresivă. Situația cadrează cu:

A. ciroză hepatică decompensată parenchimos

B. hepatită cronică stabilizată

C. proces tumoral hepatic primitiv sau metastatic

Care din explorările de mai jos ar fi cele mai indicate pentru precizarea diagnosticului:

a. explorare radiologică a tractului digestiv

b. ecografie hepatică și eventual puncție biopsie ecoghidată

c. dozarea α -fetoproteinei

d. dozarea 17 cetosteroidelor urinari

e. dozarea sideremiei

9. Care din enzimele de mai jos prezintă cea mai exprimată creștere la un alcoolic:

A. ASAT

B. ALAT

C. Colinesteraza serică

D. Fosfataza alcalină

E. γ -GT (γ -glutamyltransferaza)

10. Creșterea concentrației serice a acizilor biliari se întâlnește în:

A. ciroza biliară

B. icter mecanic

C. insuficiența hepatică

D. în toate aceste stări patologice

E. în nici una.

11. Care dintre variabilele arătate mai jos scade mai mult și mai precoce în cazul unei insuficiențe hepatice instalate rapid:

A. colinesteraza serică

B. factorul VII al coagulării

C. colesterolul seric

D. factorul VIII al coagulării

E. albumina serică

12. O creștere a retenției de BSP poate surveni în:

A. insuficiența hepatică

B. icter mecanic

C. insuficiență cardiacă și ficat de stază

D. în toate aceste situații

E. în nici una.

13. Stabiliți corespondența între variațiile suferite de activitatea serică a γ GT și următoarele stări patologice:

A. Subiect alcoolic supus unui sevraj (oprirea consumului de alcool)	I. Activitatea γ GT crește progresiv de la o examinare la alta
B. Bolnav cu metastaze hepatice ale unui carcinom gastric	II. Activitatea γ GT tinde să scadă fără a atinge însă valorile normale
C. Bolnavă cu ciroză biliară	III. Activitatea γ GT se menține crescută în platou cu mici fluctuații

14. În cirozele hepatice se constată creșteri cu caracter policlonal ale gamaglobulinelor serice deoarece astfel de creșteri interesează mai multe clase de imunoglobuline.

15. Într-o insuficiență hepatică fulminantă activitatea colinesterazei serice nu reflectă fidel gradul de afectare a ficatului deoarece într-o astfel de situație survine o creștere a amoniacului în sânge.

16. Metastazele hepatice ale unui neoplasm gastric evoluează cu o creștere importantă și progresivă a γ -glutamyltransferazei deoarece în astfel de cazuri se ajunge de regulă și la o creștere monoclonală a gamaglobulinelor serice.

17. Nivelul seric al acizilor biliari nu crește în cazurile de insuficiență hepatică deoarece acizii biliari sunt sintetizați în ficat.

18. În cazul unui bolnav alcoolic, fosfataza alcalină crește mult mai mult decât γ -glutamyltransferaza deoarece ultima din enzimele menționate (adică γ -GT) provine mai ales din osteoblaste.

19. Scăderea nivelului plasmatic de factor VII al coagulării survine mai rapid decât scăderea colinesterazei serice, deoarece T/2 al factorului VII este mult mai scurt decât cel al colinesterazei.

Cheia la întrebările 14-19:

- a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
- b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
- c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
- d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
- e. ambele afirmații incorecte

6. METABOLISMUL FIERULUI, CUPRULUI ȘI ZINCULUI

Făcând o comparație cu conținutul organismului unui adult în alte metale, ca de exemplu calciu 1000 g, potasiu 160g, sodiu 80 g, magneziu 24-30 g, cantitatea de fier este în medie de abia 4 g, cea de zinc de 1.7 g iar cea de cupru ajunge la cel mult 0,13 g. Deși aflate în cantități relativ reduse, fierul, cuprul și zincul au o deosebită importanță fiziologică, iar deficitul duc la perturbări funcționale și chiar la leziuni morfologice evidente.

6.1. DISTRIBUȚIA FIERULUI ÎN ORGANISM. COMPUȘI CONȚINÂND FIER

S-a estimat că în toată lumea ar exista 500 milioane de persoane cu deficit de fier și s-a considerat că schimbarea de la tipul carnivor al alimentației vânătorului din paleolitic (bogată în fier) la o alimentație predominant cerealieră (săracă în fier), caracteristică civilizațiilor bazate pe agricultură, ar putea explica, cel puțin în parte, marea incidență a carenței de fier (8).

Așa cum reiese din tabelul 6-1, cea mai mare parte a celor 4000 mg fier din organismul unui adult se găsește sub formă de combinație cu porfirinele, realizând compusul denumit hem (feroproporfină 9). Moleculele de hem aflate în combinație cu diverse proteine alcătuiesc hemoproteinele (hemoglobină, mioglobină, hemine celulare). Aproximativ 25% din fierul organismului reprezintă forma de stocare sub formă de feritină și hemosiderină, iar mai puțin de 1% se găsește în plasmă și în lichidul interstițial fiind legat de o beta-globulină transportoare numită transferina.

6.1.1. HEMOPROTEINE

Hemoproteinele sunt forme moleculare active în transportul, stocarea și activarea oxigenului, intervenind și în procesele de oxidoreducere.

Hemoglobina. Alcătuită din patru molecule de hem legate de cele patru lanțuri peptidice ale globinei, hemoglobina are o greutate moleculară de 67.000 fiind localizată doar în hematii. Fiecare gram de hemoglobină conține 3.38 mg fier, adică aproximativ 1 g fier la 1 kg globule roșii normale, iar rolul fiziologic al acestei hemoproteine constă în fixarea reversibilă a oxigenului, pe care îl transportă prin sânge de la plămâni la țesuturi, precum și prin intervenția sa în echilibrul acido-bazic. Anomaliile cantitative și calitative ale hemoglobinei constituie în primul rând o problemă de hematologie și vor fi prezentate în acest capitol doar în legătură cu anomaliile în economia fierului.

Mioglobină. Această hemoproteină cu greutate moleculară de 17.000 este alcătuită dintr-o singură moleculă de hem legată de o proteină și are rolul de a stoca, la nivelul musculaturii,

Tabel 6.1.

Repartizarea fierului în organism

Forma sub care se găsește	mg Fe	Procent din fierul total	Localizare	Funcția
A. Fier legat de porfirine				
1. Hemoglobină	2600	65%	eritrocite,	Transportul de oxigen
2. Mioglobină	130	3,25%	musculatură,	Stocarea oxigenului în musculatură
3. Hemine celulare	aprox. 10	0,25%	celule	Respirație celulară
B. Fier nelegat de porfirine				
1. Feritină	aprox. 700*	17%	ficat,	Depozit de fier
2. Hemosiderină	aprox. 300*	7%	măduvă, splină,	Transportul fierului
3. Transferrină	7	0,17%	plasmă și lichid interstițial	?
C. Fier nedeterminat (Formă neprecizată)	aprox. 235	6,33%	lichidul celular și extracelular fixat pe fosfați sau aminoacizi ?	
Total	4000 mg*	100%		

* Cantitățile de fier din depozite depind în mare măsură de masa corporală și de sex. Astfel, la bărbați depozitele de fier reprezintă 13 mg/kg greutate corporală iar la femeile premenopauzale fierul din feritină și hemosiderină este de abia 5 mg/kg. Ca urmare, și cantitățile totale de fier vor fi diferite în funcție de masa corporală și de sex, fiind de aproximativ 49 mg/kg la bărbat și de 40 mg/kg la femeia tânără.

oxigenul cedat de hemoglobină. De fapt afinitatea pentru oxigen a mioglobinei este de șase ori mai mare decât cea a hemoglobinei. Rezerva de oxigen fixată pe mioglobină este deosebit de importantă pentru asigurarea proceselor oxidative în cursul efectuării unui efort muscular intens într-un mediu sărac în oxigen. Conținutul mediu de mioglobină al musculaturii unui adult este de 10 mg/kg masă musculară. Cantitățile de mioglobină mult sporite aflate în musculatura mamiferelor marine (foca, morsa, balena) reprezintă un mecanism adaptativ care le permite efectuarea de eforturi prelungite sub apă. De altfel și la om conținutul în mioglobină crește prin antrenament și scade în atrofiile musculare. Leziunile care determină degradări cu caracter acut ale musculaturii striate (rhabdmioliză, sindrom de strivire) sau ale miocardului (infarct) se asociază cu eliberarea de mioglobină care poate fi detectată prin metode imunochimice în ser sau în urină.

Heminele celulare. Având rolul de activare a oxigenului, citocromii și citocromoxidazele localizate în mitocondrii asigură procesele de respirație celulară iar inactivarea lor prin cianuri sau oxid de carbon are consecințe letale. O serie de citocromi (de ex. citocromul P₄₅₀, citocromul P₄₄₈) localizați în microsomi intervin însă în reacții de hidroxilare a medicamentelor și în general a xenobioticelor, având rol important în procesele de detoxifiere și în genere de biotransformare. Tot hemoproteine sunt și peroxidazele și catalazele din sânge și din țesuturi. De notat existența unor sisteme enzimactice în care fierul nu este fixat sub formă de hem, fiind legat de proteine prin grupări conținând sulf (De exemplu xantinoxidază, fenilalaninhidroxilază, tirozinhidroxilază).

6.1.2. FIERUL DE DEPOZIT (FERITINA ȘI HEMOSIDERINA)

Sub termenul de feritină este cuprins un grup de proteine (isoferitine) hidrosolubile, relativ termostabile și având greutatea moleculară în jur de 460.000. Moleculele de feritină alcătuite din subunități au o formă de sferă goală, miezul fiind umplut mai mult sau mai puțin cu incluziuni de fier (fosfathidroxid feric). Un astfel de complex poate conține până la 4500 atomi de fier, dar de regulă doar 20 % din capacitatea de fixare a fierului este ocupată. În lipsa incluziunilor de fier se vorbește de apoferitină, iar dacă proporția de fier pe unitatea de proteină depășește 37% (în unele cazuri chiar 50%) iar complexele fier-proteină, incomplet învelite de subunitățile peptidice, se condensează și devin insolubile se ajunge la așa-numita hemosiderină. De cele mai multe ori 70% din fierul de depozit se găsește sub formă de feritină, restul de 30% fiind reprezentat de hemosiderină. Creșterea concentrației de hemosiderină denotă o suprasaturare cu fier a feritinei iar granulele de hemosiderină pot fi puse în evidență prin colorarea lor în albastru cu ferocianură de potasiu (colorația Perls sau Alabastru se Prusia). Cantitatea de fier depozitat diferă între cele două sexe, bărbații având în medie 13 mg fier de depozit pe 1 kg greutate corporală în timp ce înainte de menopauză, femeile conțin abia 5 mg fier de depozit/kg (8). Așa cum se va arăta în cele ce urmează conținutul în feritină al organismului este reglabil, sinteza de apoferitină crescând în condițiile unei încărcări cu fier și scăzând în caz de carență de fier. Din fericire, la ora actuală, modificările suferite de rezervele de fier pot fi evaluate indirect prin dozarea feritinei serice (oarecum diferită de feritinele celulare, cea serică fiind glicozilată și lipsită de fier). S-a stabilit că pentru fiecare 8-10 mg fier depozitat corespunde 1 μg feritină serică/litru ser. De fapt concentrația medie a feritinei serice este de 90 μg/l la bărbat și de abia 30 μg/l la femeia tânără. Este important de știut că în cazul unui deficit de fier, nivelul feritinei serice scade (relativ precoce), pe când în cazul unei supraîncărcări cu fier, concentrația serică a acestei proteine crește evident (21). De notat însă că procesele inflamatorii, și în special cele asociate cu leziuni hepatice, duc la creșteri

ale feritinei în ser, ceea ce limitează oarecum valoarea determinărilor de feritină serică în scopul evaluării rezervelor de fier din organism.

Fierul de rezervă are o deosebită importanță fiziologică, fiind în măsură să asigure, relativ rapid, prin mobilizare, un aport substanțial de fier, în cazul unor pierderi de sânge. În lipsa fierului de rezervă, singura sursă de fier ar fi dată doar de mica cantitate de fier absorbit din alimentație și care nu depășește 4 mg/zi chiar și în condițiile unei absorbții optime.

Cea mai mare parte a fierului de depozit și respectiv de feritină se găsește în ficat, măduvă osoasă și splină, iar durata de viață a unei molecule de feritină cu fier este de abia câteva zile, procesul permanent de degradare și resintează asigurând ca rezervorul intracelular de fier să fie ușor accesibil mobilizării. Se consideră că învelirea incluziunilor de fier de către subunitățile proteice ale moleculei de feritină previne o eventuală acțiune toxică pe care fierul liber l-ar putea exercita asupra celulelor (2,4,8,10).

6.1.3. FIERUL DE TRANSPORT. TRANSFERINA

Întreaga cantitate de fier din plasmă și din lichidul extracelular se află fixată pe transferină (siderofilină), o betaglobulină cu greutate moleculară de 88.000, alcătuită dintr-un singur lanț peptidic și sintetizată de ficat. Transferina poate fixa doi atomi de fier trivalent, iar în funcție de numărul de atomi de fier fixați se disting forme apoferice (fără fier), monoferice (cu un atom de fier) și diferice (cu doi atomi de fier).

În condiții fiziologice, doar 30-40% din transferina plasmatică este încărcată cu fier. Capacitatea totală de fixare a fierului pe transferină poate fi dedusă prin calcul, știindu-se că fiecare moleculă de transferină (GM 88.000) poate fixa doi atomi de fier ($2 \times 55,85$). Prin urmare, cele 260 mg transferină conținute în medie în 100 ml ser pot fixa 330 μ g fier. Această valoare corespunde în genere cu dozările directe ale capacității totale de fixare a fierului (CTFF) efectuate prin încărcarea cu fier trivalent a serului și îndepărtarea prin adsorbție a fierului nefixat pe transferină. De notat că prin această metodă se pot obține ușoare supraevaluări a CTFF, întrucât o cantitate redusă dar variabilă de fier se poate fixa și pe alte proteine plasmatică.

Dozând însă prin metode imunochimice transferina (ca proteină) și înmulțind valoarea acestuia (exprimată în mg/dl) cu factorul 1,27 se poate obține o evaluare mai corectă a CTFF. De exemplu, 260 mg transferină/dl $\times 1,27 = 330 \mu$ g Fe/dl. Întrucât concentrația normală a fierului plasmatic (sideremia) este în medie de 100 μ g/dl rezultă că aproximativ 230 μ g fier ar mai putea fi fixat pe transferina din 100 ml ser, această valoare reprezentând capacitatea latentă de fixare a fierului.

Este important de precizat că nivelele plasmatică de transferină cresc în cazul unui deficit de fier și scad în condițiile unei supraîncărcări cu fier, respectiv a creșterii conținutului în feritină al hepatocitelor. Având un timp de înjumătățire ($T/2$) de 4 zile, transferina asigură transportul plasmatic al fierului absorbit din intestin și a celui mobilizat din depozite, necesar sintezei hemoproteinelor. Captarea fierului legat de transferină, la nivelul țesuturilor este favorizată de posibilitatea trecerii acestor molecule proteice în lichidul interstițial și de prezența unor receptori pentru transferină aflați la suprafața celulelor. Astfel de receptori care captează și internalizează complexul transferină-fier au fost identificați în diverse țesuturi (ficat, placentă, unele tumori), dar densitatea maximă a acestor receptori se găsește la nivelul elementelor tinere ale seriei eritrocitare cu rol în sinteza hemoglobinei. De menționat că, întotdeauna mai ca și în cazul transferinei, receptori celulari pentru transferină sunt reglabili, numărul lor crescând în carența de fier și scăzând în caz de supraîncărcare cu fier a organismului. Întrucât

o fracțiune a receptorilor pentru transferină se desprinde de pe suprafața celulelor și trece în circulație, concentrația lor plasmatică poate fi evaluată prin metode imunochimice (4,6).

6.2. CIRCUITUL FIERULUI ÎN ORGANISM

Introducerea studiilor cu fier radioactiv (^{59}Fe) a adus o contribuție esențială la descifrarea mecanismelor de care depinde economia fierului în condiții fiziologice și patologice și care sunt reprezentate de absorbția, transportul, utilizarea și eliminarea fierului. Este important de precizat de la bun început că, la bărbați, pierderile de fier sunt reduse și practic neinfluențabile de cantitatea de fier din organism. În consecință economia fierului se reglează mai ales prin adaptarea mecanismelor implicate în absorbție.

6.2.1. ABSORBȚIA FIERULUI

Alimentele cele mai bogate în fier sunt carnea, viscerele, peștele, gălbenușul de ou, ardeiul, spanacul și nucile, iar o dietă obișnuită aduce un aport zilnic de 7 mg fier pentru fiecare 1000 kilocalorii din hrană. Întrucât aportul caloric variază, aportul de fier poate oscila între 12 și 26 mg zilnic. Din această cantitate, bărbatul adult absoarbe doar o mică fracțiune de aproximativ 1 mg, care de altfel este suficientă pentru compensarea pierderilor fiziologice. Procentul de fier absorbit crește însă atunci când survine o necesitate sporită de fier, ca de exemplu la copilul în creștere, la femeia tânără care pierde sânge prin menstruație precum și în ultimele luni de sarcină. Gradul de absorbție depinde și de forma sub care se administrează fierul din alimente. Așa de exemplu fierul din hem este cel mai ușor absorbabil (20-40% în cazul unui subiect carentat în fier). Fierul neheminic (trivalent) se absoarbe mai greu. În prezența vitaminei C și în mediu acid fierul trivalent se reduce la forma feroasă (bivalent) care este mai ușor absorbabilă ajungând la o absorbție de 10-30% la subiectul carentat. Există indicii că, în soluție acidă, fierul se leagă de mucine și că trecerea lui în citosolul celulelor mucoasei duodenale este favorizată de o proteină din citosolul acestor celule, denumită mobilferină (4). Pe de altă parte, compușii care formează complexe insolubile cu fierul, ca de exemplu fosfații din lactate precum și oxalații și acidul fitic din cereale, îi reduc gradul de absorbție.

Reglarea absorbției de fier este posibilă grație intervenției a două proteine din mucoasa intestinală (în special duodenală) și anume feritina și o proteină similară transferinei serice și denumită transferina mucoasei. În cazul unei carențe de fier crește sinteza și implicit concentrația de transferină a mucoasei și scade sinteza de apoferitină din celulele mucoasei duodenale, iar ca urmare fierul absorbit nu va fi fixat în celule sub formă de feritină ci va fi transferat spre plasmă (2,4,16). Pe de altă parte, în condițiile unei supraîncărcări cu fier, se reduce sinteza de transferină a mucoasei, crescând însă producția de apoferitină care fixează fierul în celule sub formă neabsorbabilă, fiind apoi îndepărtat din organism prin fecale atunci când celulele care l-au fixat se descuamează (vezi fig.6.1).

6.2.2. TRANSPORTUL ȘI UTILIZAREA FIERULUI

Asa cum reiese din figura 6.2, cea mai mare parte a fierului transportat zilnic prin plasmă (respectiv 90% din cele 35 mg fier vehiculate pe 24 de ore) se captează la nivelul măduvei osoase. Din aceste 32 mg de fier, captat zilnic de către măduvă, doar 21 mg (aproxima-

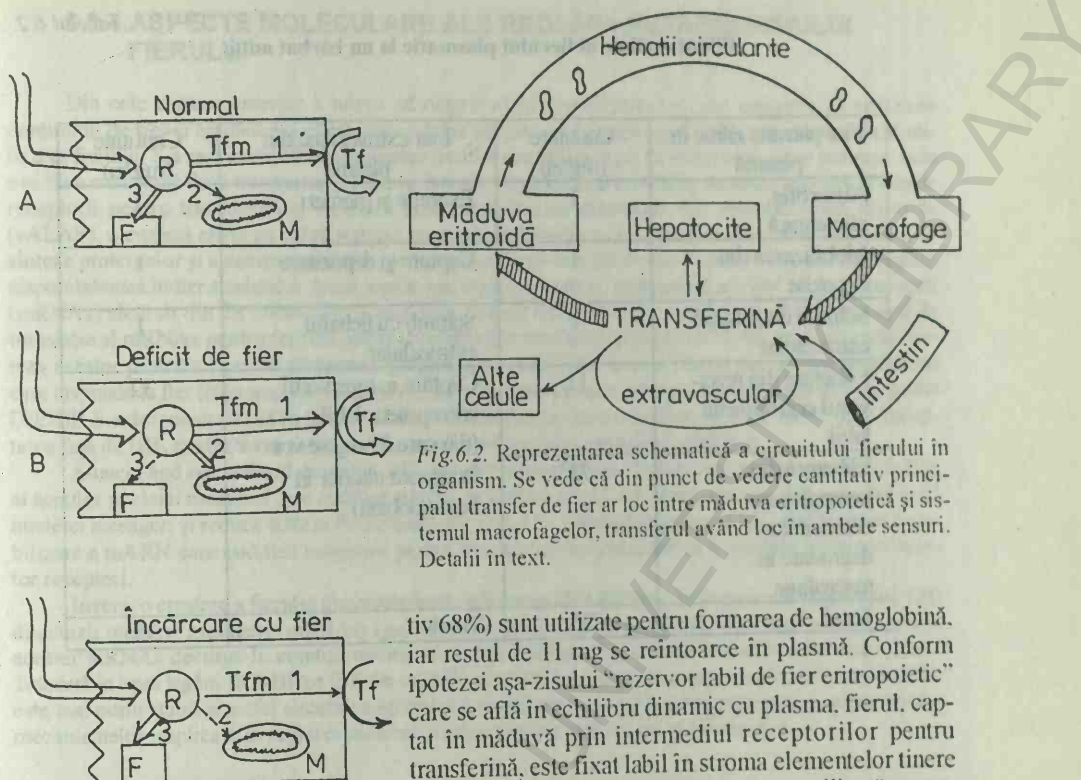


Fig. 6.1. Reglarea absorbției fierului la nivelul celulelor mucoasei intestinale. Rolul jucat de feritină (F) și de transferina mucoasei (Tfm).

A. în mod normal fierul ajuns prin difuziune într-un rezervor (R) al celulei intestinale se repartizează pe trei direcții: 1 - prin intermediul Tfm se transferă spre plasmă unde este preluat de transferina plasmatică (Tf); 2 - o parte din fierul absorbit este utilizată pentru refacerea hemoproteinelor mitocondriale cu turnover accelerat; 3 - o altă parte este stocată sub formă de feritină.

B. În carența de fier crește transferul pe calea 1 și 2 în timp ce fixarea sub formă de feritină (calea 3) este practic suprimată. De notat și creșterea transferinei din plasmă.

Fig. 6.2. Reprezentarea schematică a circuitului fierului în organism. Se vede că din punct de vedere cantitativ principalul transfer de fier are loc între măduva eritropoietică și sistemul macrofagelor, transferul având loc în ambele sensuri. Detalii în text.

tiv 68%) sunt utilizate pentru formarea de hemoglobină, iar restul de 11 mg se reîntoarce în plasmă. Conform ipotezei așa-zisului "rezervor labil de fier eritropoietic" care se află în echilibru dinamic cu plasma, fierul, captat în măduvă prin intermediul receptorilor pentru transferină, este fixat labil în stroma elementelor tinere ale seriei eritrocitare, iar fracțiunea neutilizată pentru o sinteză promptă de hemoglobină se încorporează în feritină. Această feritină din stroma elementelor tinere ale seriei eritrocitare poate fi cedată macrofagelor din măduvă, iar din acestea se reîntoarce în plasmă fixându-se pe transferină. La rândul său fierul încorporat în hemoglobină se reîntoarce în sânge atunci când hematiile sunt lansate în circulație. Intervalul de timp între captarea fierului radioactiv din plasmă și reîntoarcerea radioactivității: în sângele circulant sub formă de hemoglobină inclusă în hematii se numește timp de hemoglobinizare efectivă și este de 24-43 ore (16). În urma degradării în macrofage a hematiilor îmbătrânite, fierul eliberat din hemoglobină este la început stocat sub formă de feritină fiind apoi eliberat în plasmă și fixat pe transferină, urmând a se relua ciclul descris mai sus (vezi fig. 6.2). O ilustrare numerică a bilanțului fierului plasmatic este prezentată în tabelul 6.2.

Bilanțul zilnic al fierului plasmatic la un bărbat adult

Fier pătruns zilnic în plasmă	Cantitate (mg/zi)	Fier extras zilnic din plasmă	Cantitate (mg/zi)
Absorbția alimentară	1	Excreție și pierderi	1
Mobilizarea din depozite	1	Captare și depozitare	1
Schimb cu lichidul extracelular	1	Schimb cu lichidul extracelular	1
Eliberare din rezervorul eritropoietic labil	11	Captare în rezervorul eritropoietic labil (din care 21 mg se vor încorpora ulterior în hemoglobină)	32
Eliberare din hemoglobina eritrocitelor degradate în macrofage	21		
Total	35	Total	35

6.2.3. ELIMINĂRILE DE FIER

Așa cum s-a arătat mai sus, cele 21 mg fier eliberat zilnic prin distrugerea hematiilor, se reîntorc în plasmă, se fixează pe transferină fiind apoi preluate din nou în măduva osoasă. Ca urmare, în lipsa unor hemoragii, circuitul fierului decurge practic într-un sistem închis. De fapt, la bărbatul adult, eliminările de fier prin urină sunt minime (sub 0,1 mg/24 ore) și devin mai însemnate doar în caz de proteinurie masivă. Descuamarea tegumentelor duce la pierderea de 0,2 mg zilnic, iar prin descuamările mucoasei intestinale și prin excreția biliară se mai elimină alte 0,2 mg/24 ore. Restul de 0,5 mg fier se pierd cu prilejul hemoragiilor minime de aproximativ 1 ml zilnic, survenite la nivelul mucoaselor digestive, chiar și în condiții fiziologice. Este evident că în cazul unor hemoragii mai abundente, pierderile de fier vor fi proporțional crescute, iar economia nu se mai desfășoară într-un circuit închis. Astfel în cazul femeilor care prezintă cicluri menstruale, se mai pierd lunar încă aproximativ 25 mg fier cu cei 50 ml sânge menstrual. În cazul unor pierderi de sânge rezervele de fier furnizează o sursă rapid accesibilă de fier, pe când absorbția intestinală poate asigura cel mult 4 mg fier/24 ore (2,8,9,16).

6.2.4. ASPECTE MOLECULARE ALE REGLĂRII METABOLISMULUI FIERULUI

Din cele expuse anterior a reieșit că organismul posedă mecanisme capabile să sesizeze conținutul de fier al celulelor și că își poate adapta mecanismele implicate în absorbția, stocarea și utilizarea fierului. S-a mai arătat că metabolismul fierului este strâns legat de intervenția unor proteine, cele mai bine cunoscute fiind transferina și feritina. Recent s-a elucidat și rolul altor structuri proteice și anume receptorii pentru transferină și sintetaza acidului deltaaminolevulinic din celulele seriei eritroide (eALAS), o enzimă cheie pe calea sintezei componentei porfirinice a hemului. S-a mai demonstrat că sinteza proteinelor și a enzimelor amintite mai sus se află sub controlul unui "sensor" capabil să sesizeze disponibilitatea în fier a celulelor. Acest sensor este reprezentat de un fragment al acizilor nucleici mesageri (mRNAs) alcătuit din 28 nucleotide și care prin fixarea unei proteine specifice modifică procesul de translație al mRNAs pentru feritină, pentru receptorii la transferină și pentru eALAS, reglând astfel sinteza acestor proteine la nivel ribosomal. Fragmentul nucleotidic amintit poartă denumirea de element care răspunde la fier (iron responsive element, IRE), iar proteina care îl leagă (binding protein) este notată IRE-BP. S-a demonstrat că în funcție de disponibilitatea în fier a celulelor, IRE-BP își modifică afinitatea față de IRE și afectează astfel translația acizilor nucleici mesageri (mRNAs).

Atunci când scade fierul din celule IRE-BP își crește afinitatea față de fragmentul nucleotidic IRE al acizilor nucleici mesageri care codifică sinteza de feritină și eALAS, limitează translația acestor acizi nucleici mesageri și reduce sinteza de feritină și de eALAS. Totodată complexul IRE-BP produce o stabilizare a mRNA care codifică receptorii pentru transferină ducând astfel la o creștere a sintezei acestor receptori.

Invers, o creștere a fierului din celule scade afinitatea IRE-BP față de fragmentul nucleotidic IRE din acizii nucleici mesageri (mRNAs) specifici care codifică feritina și eALAS, astfel încât translația acestor mRNAs decurge în condiții optime iar sinteza proteinei și enzimei amintite este amplificată. Totodată în lipsa legării IRE-BP pe IRE din mRNA care codifică receptorii pentru transferină, acest mRNA este mai puțin stabil și astfel sinteza receptorilor amintiți scade (4,6,11). O reprezentare schematică a mecanismelor implicate în reglarea metabolismului fierului este redată în tabelul 6.3.

6.3. NECESITĂȚILE DE FIER ALE ORGANISMULUI

Pe baza datelor obținute referitoare la procesul de absorbție, transport, stocare, utilizare și eliminare a fierului s-a putut stabili atât balanța fierului plasmatic (vezi tab.6.2) cât și necesitățile de fier ale organismului în diverse condiții fiziologice (vezi tab.6.4). Se poate vedea că nevoile de fier ale unui bărbat adult de 70 kg nu depășesc 1 mg/zi ceea ce corespunde pierderilor zilnice de fier. Nevoile de fier sporesc în perioada de creștere și în special în cursul pubertății. Pierderile de sânge menstruale (35-70 ml/lună) implică un surplus în aportul de fier, iar, în cazul fetițelor care continuă să crească și după instalarea menstruației necesitățile sunt aproape de 3 ori mai mari decât cele ale bărbatului adult sau ale femeii trecute de menopauză. Amenoreea din cursul sarcinii ar duce în principiu la economisirea unei cantități de aproximativ 200 mg fier. Nevoile de fier ale gravidei sunt însă mult crescute în special în ultimele luni de sarcină. De fapt formarea masei corporale și a masei sanguine a fătului necesită aproximativ 400 mg fier iar mărirea uterului implică un surplus de alte 500 mg fier. Ținând cont și de eventualele pierderi de sânge care survin în cursul parturii se evaluează că nevoile de fier din ultimul trimestru de graviditate ajung la aproape de 4 ori nevoile bărbatului adult. Luându-se în considerare că absorbția fierului alimentar este parțială (cel mult 40% în cazul unui subiect carent) se recomandă ca aportul de fier să fie de câteva ori mai ridicat decât necesitățile calculate în funcție de pierderi și arătate în tabelul 6.4. Astfel, în timp ce pentru bărbatul adult și pentru femeia trecută de menopauză sunt suficiente 10 mg fier alimentar în rația zilnică, în cazul băieților în creștere și mai ales a fetelor între 12-18 ani pre-

Tabel 6.3.

Mecanisme implicate în reglarea metabolismului fierului. Rolul IRE-BP adică al proteinei care poate lega cu afinitate variabilă un segment nucleotidic (IRE) din structura acizilor ribonucleici mesageri (mRNAs) modificând translația sau stabilitatea acestora și implicit sinteza receptorilor pentru transferină, a feritinei și a sintetazei acidului deltaaminolevulinic (δ -ALAS) din elementele critroide. După date din literatură (4,9,11)

Fier accesibil celulelor	Afinitatea IRE-BP față de IRE din mARN	Sinteza de receptori pentru transferină	Sinteza de feritină	Sinteza de δ -ALAS	Consecințe în economia fierului
scăzut	crește	crește	scade	scade	Se favorizează captarea de Fe în celulele carentate. Se limitează fixarea lui sub formă de feritină astfel încât mai mult Fe este utilizabil pentru sinteza de hem. Se limitează sinteza de porfirine care în lipsa de Fe s-ar acumula în celule.
creșcut	scade	scade	crește	crește	Scade captarea de Fe din plasmă. Fe din celule este stocat sub formă de feritină (necotoxic). Se stimulează sinteza de porfirine și implicit a moleculelor de hem.

Tabel 6.4.

Necesitățile de fier ale organismului în diverse condiții fiziologice

Starea fiziologică	Particularități ale metabolismului fierului	Necesități zilnice de fier (mg)
Bărbat adult sau femeie trecută de menopauză	Elimină zilnic 1 mg fier	1
Adult sănătos donator de sânge (1.5l/an)	Elimină zilnic 1 mg fier; pierde anual 750 mg fier. Pierderile suplimentare de fier raportate la 24 ore: $750:365 = 2.1$ mg	3.1
Femeie prezentând cicluri menstruale	Pierde zilnic 1 mg fier; pierde lunar 25 mg fier cu cei 50 ml sânge menstrual; Pierderi suplimentare de fier raportate la 24 ore: $25 \times 12:365 = 0.8$ mg	1.8
Gravidă	Elimină zilnic 1 mg de fier și nu pierde fier prin menstruație. Necesită totuși un surplus de aprox. 2.7 mg zilnic	3.7
Femeie care alăptează fără a prezenta cicluri menstruale	Excretă zilnic 1 mg fier; nu pierde fier prin menstruație. Necesită un surplus de 0.8 mg fier pe care-l elimină prin lactație	1.8
Femeie care alăptează și prezintă cicluri menstruale	Elimină zilnic 1 mg fier; pierderi de fier prin sângele menstrual raportate la 24 h: 0.8 mg. Necesitar suplimentar impus de lactație: 0.8 mg	2.6
Copil de 12 ani	Elimină zilnic 0.2 mg fier; necesită însă un surplus zilnic de 1 mg fier pentru creștere	1.2
Băiat la pubertate	Elimină zilnic aproape 1 mg fier; necesită însă un surplus zilnic de 1 mg fier pentru creșterea și formarea depozitelor de fier	2
Fetiță la pubertate (după apariția ciclurilor menstruale)	Elimină zilnic aproape 1 mg fier; pierderi de fier prin sângele menstrual raportate la 24 h: 0.8 mg. Necesități suplimentare impuse de creștere și formarea depozitelor de fier: 1 mg.	2.8

cum și la femeile între 18-55 ani, rația zilnică va trebui să conțină 18 mg fier (8,16). Întrucât aceste recomandări dietetice sunt relativ rar respectate există o mare incidență a stărilor de carență în fier, iar laboratorului clinic îi revine sarcina de a depista cât mai precoce un astfel de deficit.

6.4. METODE DE EXPLORARE A METABOLISMULUI FIERULUI

Alături de metodele clasice bazate pe dozări ale hemoglobinei, ale fierului seric (sideremia) și ale capacității totale de fixare a fierului (CTFFE), s-au elaborat metode imunochimice care permit evaluarea concentrațiilor de feritină serică și chiar de receptori pentru transferină, iar metodele histochimice pot evidenția granulații de hemosiderină în diverse țesuturi. O altă cale de explorare, aparținând medicinei nucleare și bazate pe utilizarea fierului marcat (^{59}Fe) permite o urmărire dinamică a circuitului fierului în organism și constituie ferocinetica.

6.4.1. INVESTIGAȚII CARE NU IMPLICĂ UTILIZAREA ISOTOPILOR

Pentru a se putea interpreta eventualele modificări cu caracter patologic este important să fie cunoscute variațiile fiziologice ale sideremiei. Deși s-au semnalat nivele ale sideremiei de până la 170 $\mu\text{g/dl}$ la subiecți clinic sănătoși, valorile fierului seric întâlnite la marea majoritate a bărbaților normali, oscilează între 90-140 $\mu\text{g/dl}$, fiind mai scăzute în medie cu 15 $\mu\text{g/dl}$, la femei (75-125 $\mu\text{g/dl}$). Există însă și autori (2) care admit limite excesiv de largi ale sideremiei la subiecții clinic sănătoși, valorile oscilând între 49-160 $\mu\text{g/dl}$. De notat că metodele utilizând Ferren ca reactiv la autoanalizoare, furnizează valori mai joase decât atunci când se folosesc ortofenantrolina sau batofenantrolina. Nou-născutul cu icter fiziologic prezintă o sideremie ușor crescută, scăzând însă în perioada alimentației lactate și atingând valorile întâlnite la adult după ce copilul a împlinit 6 ani. Capacitatea totală de fixare a fierului (CTFFE) oscilează la majoritatea adulților între 300-360 $\mu\text{g/dl}$ (21) admitându-se, după alți autori (2), limite mai largi de variații între 260-420 $\mu\text{g/dl}$. În primele zile de la naștere CTFFE este mai scăzută, dar crește apoi la sugar la valori superioare celor întâlnite la adult. De notat că procentul de saturare a transferinei este de abia 20-25% la sugar în timp ce la adult saturarea transferinei este de 30-40%.

Gravidele aflate după a 28-a săptămână de sarcină, prezintă a scădere a sideremiei și o creștere a CTFFE, astfel încât gradul de saturare a transferinei poate scădea sub 20%. În cazul femeilor care folosesc anticoncepționale orale de natură steroidică se constată o creștere a sideremiei concomitent cu creșterea CTFFE.

Conform Sistemului Internațional (SI) de exprimare a datelor de laborator, concentrația fierului seric s-ar exprima sub formă de $\mu\text{mol/l}$. Ținând cont că masa atomului de Fe este de 55,847, sideremia normală ar oscila între 16,12 $\mu\text{mol/l}$ și 25 $\mu\text{mol/l}$ la bărbați și între 13,43 $\mu\text{mol/l}$ și 22,4 $\mu\text{mol/l}$ la femei. Factorul de transformare din $\mu\text{g/dl}$ în $\mu\text{mol/l}$ este 0,1791 ($\mu\text{g/dl} \times 0,1791 = \mu\text{mol/l}$).

În stări patologice determinările de fier seric evidențiază o scădere a sideremiei în carența severă de fier și o creștere a acesteia în cazurile de supraîncărcare cu fier, precum și în anemiile megaloblastice, în anemiile hemolitice și în anemiile sideroblastice. Fără a subevalua utilitatea determinărilor de fier seric, trebuie arătat că valoarea acestor determinări este îngrădită de limitele relativ largi ale valorilor normale și mai ales de oscilațiile suferite de

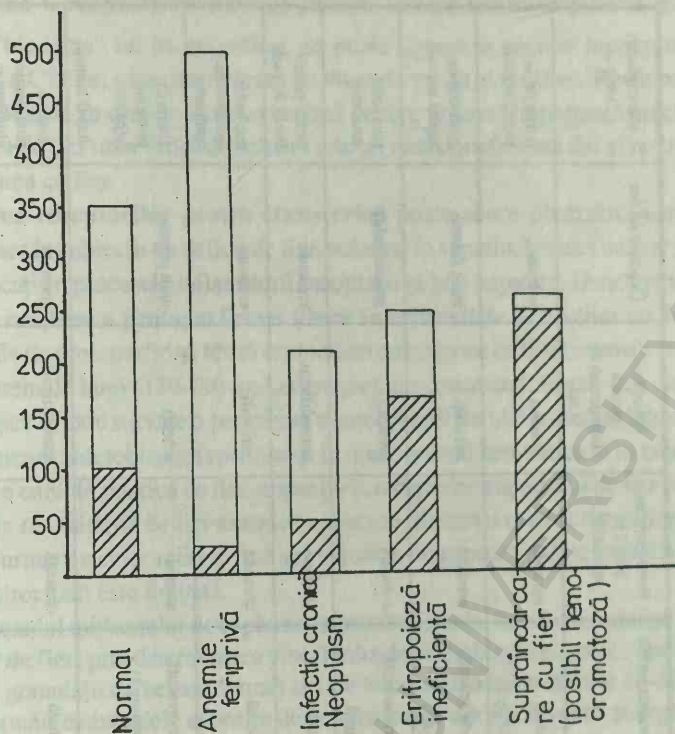


Fig. 6.3. Reprezentare schematică a comportării sideremiei (porțiunea hașurată a coloanelor) și a capacității totale de fixare a fierului (coloanele în întregime) în câteva anomalii mai caracteristice ale economiei fierului. Diferența între capacitatea totală de fixare (CTFe) și sideremie reprezintă capacitatea latentă de fixare (porțiunea albă a coloanelor). Raportul (sideremie/CTFe) x 100 - reprezintă gradul de saturare al transferinei.

sideremie care pot da diferențe de până la 30% între două determinări efectuate la un interval de 8 ore. Mai important este faptul că în stadiile prelatente și latente ale deficitului de fier, scăderile sideremiei și creșterile CTFe nu sunt suficient de exprimate și deci nu pot depista precoce instalarea unui astfel de deficit.

Spre deosebire de variabilele menționate mai sus, **dozările de feritină** serică reflectă mai fidel starea depozitelor de fier, nivelul seric al feritinei scăzând sub 20 $\mu\text{g/l}$ încă din stadiul prelatent și ajungând sub 12 $\mu\text{g/l}$ în stadiul latent al deficitului de fier, înainte de instalarea unei anemii hipochrome.

Supraîncărcarea cu fier poate fi de asemenea mai precis depistată prin dozări de feritină serică, al cărei nivel crește peste 200 $\mu\text{g/l}$ și chiar peste 500 $\mu\text{g/l}$. Supraîncărcarea cu fier se asociază și cu o creștere marcată a gradului de saturare al transferinei (peste 70% și chiar peste 90%) datorită creșterii sideremiei și scăderii CTFe.

Nivelul seric al feritinei crește însă și în caz de necroză a unor celule cu rol de stocare a fierului, ca de exemplu în leziunile toxice ale ficatului. Procesele inflamatorii și unele neoplazii duc și ele la o creștere a feritinei alături de creșterea proteinelor de fază acută (fibrinogen,

Tabel 6.5

Investigarea metabolismului fierului prin metode de laborator în diverse stări patologice CTFe = capacitatea totală de fixare a fierului. Conceput pe baza datelor din literatură (2,21).

Boala	Fier seric	CTFe	Saturarea transfeinei	Feritina serică	Protoporfirina liberă în eritrocite	Receptori pentru transferrină în ser	Depozite de fier	Alte explorări utile
Deficit prelatent de fier, fără anemie	Normal	normală	normală	scăzută < 20 µg/l	normală	crescuți	scăzute	eritrocite de aspect normal
Deficit latent de fier, fără anemie	Normal sau scăzut	crescută	scăzută	foarte scăzută 12 µg/l	crescută	crescuți	mult scăzute	eritrocite de aspect normal
Deficit manifest de fier, anemie	Mult scăzut	mult crescută	foarte scăzută (< 10%)	foarte scăzută 12 µg/l	crescută	crescuți	practic golite	microcite anulocite
Anemii din infecții cronice sau neoplasme	ușor scăzut	ușor scăzută	normală sau scăzută	crescută	crescută	nemodificați	crescute	probe pentru boala de bază
Eritropoieză insuficientă (Talasemie, anemie sideroblastică)	normal sau crescut	normală sau scăzută	normală sau crescută	crescută	crescută	variabili	crescute	explorări hematologice complexe
Hemocronatoză primară	mult crescut	scăzută	mult crescută (> 80%)	mult crescută (> 300 µg/l)	normal	scăzuți	mult crescute	alterarea probelor hepatice
Intoxicație cu plumb	normal	normală	normală sau crescută	normală	crescută	nemodificați	normale	diabet bronzaț dozarea plumburiei

α_1 AT, proteina C reactivă). În astfel de situații, în care survin modificări de repartiție a fierului cu "blocarea" lui în macrofage, se poate ajunge la anemie hipocromă, scăderea sideremiei și a CTFFe, care contrastează cu nivelul crescut al feritinei. Recunoașterea acestor stări patologice, în care nu există o carență de fier, prezintă importanță practică, întrucât administrarea de fier unor astfel de bolnavi este nu numai inefficientă dar și nocivă ducând la supraîncărcarea cu fier.

Dozarea receptorilor pentru transferină poate aduce precizări, acești receptori crescând în ser la subiecții cu deficit de fier, scăzând în supraîncărcarea cu fier și fiind practic nemodificați în procesele inflamatorii, neoplazii și boli hepatice. Există și studii care au evidențiat o creștere a **protoporfirinei libere în eritrocitele** subiecților cu deficit de fier. Concentrațiile de protoporfirină liberă eritocitară considerate ca fiind normale, oscilează însă în limite extrem de largi (120-790 $\mu\text{g/l}$ eritrocite), iar concentrațiile sale pot crește și în alte stări patologice în care survine o perturbare a încorporării fierului în hemoglobină (intoxicații cu plumb, anemii sideroblastice) precum și în unele anemii hemolitice și în talasemii în care se ajunge la o carență relativă de fier, respectiv la o depășire a aportului de fier (care este normal) de către necesitățile de fier excesiv crescute ale seriei eritrocitare în puseu de proliferare. Ca urmare a celor relatate mai sus valoarea diagnostică a determinărilor de protoporfirină eritocitară este limitată.

La arsenalul mijloacelor de explorare a metabolismului fierului se adaugă **investigarea depozitelor de fier**, prin determinarea procentului de sideroblaști (elemente nucleate din seria roșie având granulații de hemosiderină) și care la normali oscilează între 40-60%. Se pot de asemenea urmări eventualele depozite de hemosiderină din alte țesuturi și organe (2.8.16).

Pentru depistarea unei eventuale supraîncărcări cu fier se mai utilizează și **dozările de fier urinar**, crescute într-o astfel de situație, eliminările urinare de fier accentuându-se foarte mult după administrarea unui chelator de fier ca de exemplu deferoxamina (Desferal). Reproducem în tabelul 6.5. și fig.6.3. comportarea diverselor variabile utilizabile în diagnosticul diverselor anomalii ale metabolismului fierului.

6.4.2. FEROCINETICA

Utilizarea fierului radioactiv permite o apreciere dinamică a economiei fierului (ferocinetica) evaluând viteza de captare a ^{59}Fe din plasmă, identificând organele în care are loc acumularea izotopului injectat, apreciind gradul de încorporare a acestuia în hemoglobină, precum și durata de viață a hematiilor (2,8,16).

Probele de depurare a fierului plasmatic (clearance plasmatic al fierului) se bazează pe injectarea intravenoasă a unei doze de ^{59}Fe (eventual fixat în prealabil pe transferină prin incubarea cu plasmă autoloagă) și măsurându-se apoi radioactivitatea plasmăi din sângele circulant la intervale de 15 minute, timp de 2-3 ore. Așa cum se vede din figura 6.4 din panta de scădere a radioactivității și respectiv prin determinarea timpului de înjumătățire ($T/2$) biologică a fierului radioactiv se poate evalua intensitatea transportului plasmatic al fierului care este în mod normal de 30-37,5 mg/24 ore. Admițând o con-

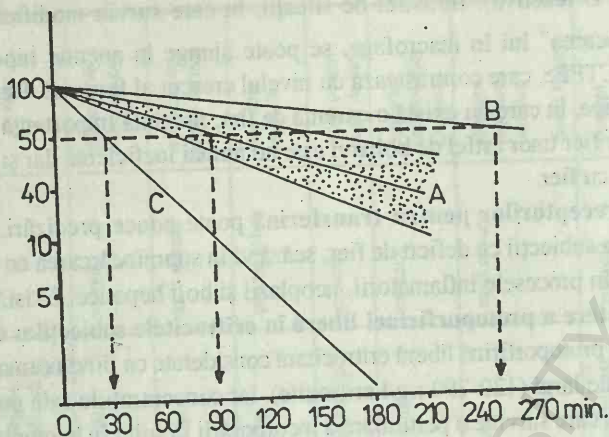


Fig. 6.4. Clearance plasmatic al fierului radioactiv (^{59}Fe). Din panta de scădere a radioactivității reprezentată semilogaritmice se poate calcula timpul de înjumătățire în plasmă ($T/2$) a fierului injectat. Pe abscisă - timpul de la injectarea dozei de ^{59}Fe (în minute); pe ordonată - procentul de ^{59}Fe rămas în plasmă (exprimare logaritmică).

- A. Subiect normal. Aria punctată indică limitele normalității ($T/2$ în medie 90 min);
- B. Clearance încetinit ($T/2 = 255$ min) aspect întâlnit în anemii aplastice și în hemocromatoză.
- C. Clearance accelerat ($T/2 = 30$ min) denotând o captare rapidă a fierului în măduva osoasă: aspect întâlnit în anemia feriprivă, anemia post hemoragică, anemii hemolitice hiperregenerative dar și în infecții cronice, neoplasme, anemii sideroblastice și megaloblastice.

concentrație a fierului plasmatic de $100 \mu\text{g/dl}$ (1 mg/l) și un volum plasmatic de 3 litri, rezultă că cele 3 mg de fier conținut în plasmă se reînnoiesc zilnic de cel puțin 10 ori.

Măsurarea radioactivității de suprafață (dozări externe) se practică la nivelul măduvei osoase, aplicându-se contorul Geiger-Müller pe sacru. Măsurându-se comparativ radioactivitățile pe sacru și respectiv pe ariile hepatice și splenice se pot obține relații asupra organelor la nivelul cărora are loc o acumulare preferențială a fierului radioactiv injectat. Se poate de asemenea evalua viteza cu care este captat cât și viteza cu care fierul radioactiv părăsește organul respectiv.

În cazul măsurătorilor efectuate la nivelul osului sacrat, scăderea radioactivității corespunde cu lansarea în circulație a hematiilor conținând fierul radioactiv încorporat în hemoglobină (fig. 6.5).

Determinarea încorporării fierului radioactiv în hemoglobină se face în continuarea probei de clearance plasmatic al fierului, recoltându-se zilnic probe de sânge timp de 15 zile și măsurându-se radioactivitatea în hematii. În funcție de volumul sanguin și de hematocrit se poate calcula procentajul de fier radioactiv încorporat în hemoglobina eritrocitelor circulante (fig. 6.6).

Așa cum se vede din tabelul 6.6 ferocinetica adaugă informații utile atât pentru diagnostic cât mai ales pentru o mai bună înțelegere a mecanismelor patogenetice.

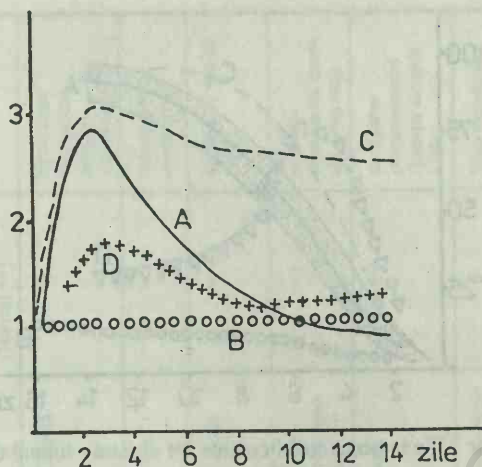


Fig. 6.5. Variația radioactivității de suprafață la nivelul sacrului (măsurare externă). Pe abscisă - timpul (t) în zile de la injectarea intravenoasă de ^{59}Fe ; pe ordonată - radioactivitatea acumulată la nivelul măduvei osoase exprimată prin raportul: impulsuri/minut la timpul t/impulsuri pe minut la timpul t_0 ; La timpul t_0 (adică imediat după injectarea de ^{59}Fe), radioactivitatea măduvei este dată doar de radioisotopul din sângele circulant, raportul amintit crescând pe măsură ce ^{59}Fe este captat de celulele măduvei osoase și scăzând atunci când hematiile conținând radioisotopul înglobat în hemoglobină sunt lansate în circulație.

A. Aspect normal. Captare rapidă a radioactivității urmată de lansarea în circulație a hematiilor conținând ^{59}Fe încorporat în hemoglobină.

B. Lipsă de captare din cauza aplaziei medulare.

C. Captarea rapidă la nivelul măduvei nu este urmată de o golire a acestora fie din cauza unui deficit de încorporare a fierului în hemoglobină (anemii sideroblastice), fie din cauza unei perturbări a procesului de maturare și lansarea în circulație a hematiilor (anemii megaloblastice).

D. În hemocromatoză o cantitate mai redusă de ^{59}Fe este captată în măduvă, iar un procent ridicat al radioactivității se acumulează la nivelul ficatului.

6.5. ANOMALII ALE METABOLISMULUI FIERULUI

Deși cauzate de mecanisme complexe, anomaliile care afectează metabolismul fierului pot fi împărțite în două mari categorii: anomalii evoluând cu deficit de fier și anomalii asociate unei acumulări de fier. Se pot întâlni însă și situații în care rezervele de fier sunt normale sau chiar crescute, dar utilizarea fierului și respectiv încorporarea lui în hemoglobină sunt deficitare.

Procedeele de laborator utilizate pentru evaluarea anomaliilor în metabolismul fierului au fost prezentate anterior. În cele ce urmează se va insista asupra mecanismelor implicate în producerea deficitelor sau a supraîncărcărilor cu fier, precum și asupra consecințelor acestor anomalii asupra stării de sănătate.

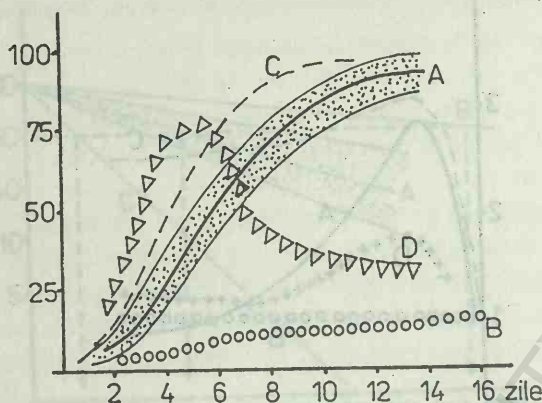


Fig. 6.6. Încorporarea de ^{59}Fe în hematiile circulante. Pe abscisă - timpul de la injectarea de ^{59}Fe (în zile). Pe ordonată - radioactivitatea dată de ^{59}Fe încorporată în hematii (procent din doza injectată).
 A. Subiect normal. Aria punctată indică limitele normalității.
 B. Încorporare redusă (anemie aplastică, anemie sideroblastică, anemie megaloblastică).
 C. Încorporare accelerată (anemie feriprivă, anemie posthemoragică, anemie megaloblastică tratată cu vitamina B_{12}).
 D. Aspect particular în unele anemii hemolitice hiperregenerative. Radioactivitatea apare rapid în hematii, dar scade apoi din cauza hemolizei.

6.5.1. DEFICITUL DE FIER

Scăderea rezervelor de fier survine ori de câte ori aportul sau absorbția nu fac față necesităților. Astfel de situații apar fie din cauza unei diete inadecvate (regim făinos-lactat) cât mai ales ca urmare a unei absorbții deficitare (rezecții întinse de stomac sau de intestin subțire, sindrom de ansă oarbă, diaree cronice, sindrom de malabsorbție). Deși multe persoane cu aclorhidrie nu dezvoltă un deficit de fier, lipsa acidului clorhidric constituie un factor predispozant pentru tulburările de absorbție a fierului. Pierderile cronice de sânge și sarcinile repetate pot contribui la instalarea carențelor de fier, mai ales dacă mecanismele compensatorii sunt ineficiente. În cazurile în care nu se depistează o cauză evidentă a deficitului de fier, se poate bănui o dereglare a mecanismelor care controlează economia fierului, respectiv a "senzorilor" sensibili la conținutul în fier al celulelor.

Anemia feriprivă reprezintă cea mai bine cunoscută consecință a deficitului de fier. De precizat însă că această formă de anemie evoluând cu hipocromie, microcitoză și anulocitoză apare doar în stadiile avansate ale carenței de fier, atunci când rezervele de fier au fost în mare măsură epuizate. Starea asiderotică, evoluând o perioadă de timp fără anemie, constituie stadiul prelatent și respectiv latent al deficitului de fier și se explică prin aceea că fierul din organism este utilizat cu precădere pentru formarea de hemoproteine și în special de hemoglobină ca urmare a creșterii receptorilor pentru transferină la nivelul elementelor tinere ale seriei eritrocitare. În consecință, producția de hemoglobină se menține o bună perioadă de timp pe seama spoliei rezervelor de fier.

Există indicii că în carența latentă de fier se ajunge la scăderea unor enzime celulare conținând fier. Așa de exemplu, scăderea activității alfa-glicerofosfat oxidazei mitocondriale favorizează acumularea de acid lactic în musculatură și poate explica fatigabilitatea excesivă

Comportarea probelor de laborator relativ simple și a ferocinției în câteva anomalii ale metabolismului fierului. CTFe = capacitatea totală de fixare a fierului

Starea patologică	Sideremie	CTFe	Clearance plasmatic al ^{59}Fe injectat i.v.	Captarea de ^{59}Fe în măduva osoasă (măsurători externe)	ncorporarea de ^{59}Fe în hematitele circulante	Granulații de hemosiderină în măduva osoasă (Normal ++)	Alte probe de laborator
Anemie feriprivă	mult scăzută	mult crescută	mult accelerat (T/2 scurtat)	capture rapidă urmată de o scădere progresivă a radioactivității	intensă și rapidă	0	hipocromie; microcitoză; adescori anuciditate
Anemie post-hemoragică	moderat scăzută	normală sau crescută	accelerat (T/2 scurtat)	capture și golire rapidă	foarte intensă	+	reticulocitoză exprinsă
Anemii din infecții cronice sau neoplazii	normală sau scăzută	moderat scăzută	accelerat (T/2 scurtat)	capture normală, golire (lansare) întârziată	moderat scăzută	+++	explorarea bolii de bază
Anemii aplastice	nici descreșcută	ușor scăzută	întârziat (T/2 prelungit)	capture redusă	foarte redusă (uneori chiar lipsă de incorporare)	+++	scăderea elementelor tinere ale seriei roșii
Eritropoeză insuficientă	normală sau crescută	normală sau scăzută	accelerat (T/2 scurtat)	capture rapidă, golire (lansare) mult întârziată	mult redusă	+++	precizarea etiopatogenezei (punctia sternală, LDH)
Deficit de transferină	foarte mult scăzută	extrem de scăzută	extrem de accelerat (T/2 aprox. 5 min.)	deficit de capture	mult redusă practic nulă	0	lipsa transferinei prin tehnici imunologice
Hemoromatoză primară	mult crescută	scăzută (saturarea transferinei > 80%)	întârziat (T/2 prelungit)	ușor redusă	ușor redusă	+++	probe hepatice, glicemie; dozări hormonale

a femeilor cu deficit de fier. S-a constatat la astfel de persoane și o scădere a activității monoaminooxidazei (MAO) cea ce explică reducerea catabolizării catecolaminelor, iar acumularea acestora este incriminată în iritabilitatea și anomaliiile de comportament asociate deficitului de fier.

Persoanele cu deficit de fier expuse la frig nu răspund printr-o creștere adecvată a secreției de hormoni tiroidieni (triiodotironină) și implicit prezintă o perturbare a termogenezei ceea ce ar putea explica senzația permanentă de frig (frilozitate) pe care o acuză astfel de femei. S-a mai arătat că femeile cu deficit de fier dau naștere unor copii hipotrofici, iar în caz de expunere la diverse metale (plumb, cadmiu, stronțiu) au tendința de a le absorbi în cantități crescute, prezentând deci risc sporit pentru intoxicație.

Remarcabil este faptul că manifestările amintite și anume fatigabilitatea excesivă, frilozitatea și anomaliiile de comportament nu se întâlnesc în alte forme de anemii (chiar la valori ale hemoglobinei sub 10 g/dl) pe când în deficitul de fier aceste manifestări apar chiar și în formele latente fără anemie.

Când deficitul de fier se prelungește și se accentuează se instalează anemia microcitară și se dezvoltă leziuni atrofice ale mucoasei digestive. Atrofia mucoasei linguale, faringiene și esofagiene se traduce prin arsuri și jenă la deglutiție realizând "disfagia sideropenică" (sau sindromul Plummer-Vinson) iar afectarea mucoasei gastrice duce la aclorhidrie, care cedează după tratamentul cu fier. Din cele relatate mai sus reiese importanța decelării deficitului de fier într-un stadiu cât mai precoce. Așa cum s-a arătat în tabelul 6.5, prima modificare decelabilă prin teste de laborator este scăderea feritinei serice, iar pe măsură ce deficitul de fier se accentuează, se dezvoltă scăderea sideremiei, creșterea CTFFe și scăderea gradului de saturare a transferinei, apărând ulterior și anemia microcitară (2,8,9,21).

Deficitul de fier este unica situație în care este indicată terapia cu fier, iar la ora actuală există o serie de preparate cu biodisponibilitate ameliorată. Administrarea parenterală este indicată doar atunci când există fenomene certe de malabsorbție. De subliniat că terapia cu fier este contraindicată în alte forme de anemii în care rezervele de fier sunt crescute.

6.5.2. DEFICITUL DE TRANSFERINĂ

Așa cum s-a arătat anterior transferina și respectiv CTFFe sunt moderat scăzute în supraincărcarea cu fier, precum și în infecții cronice, poliartrită reumatoidă și procese neoplazice (vezi tabel 6.5). Întrucât transferina este sintetizată în ficat, nivelul acesteia va scădea în insuficiența hepatică severă, iar pierderile urinare de transferină explică scăderea CTFFe la bolnavii cu sindrom nefrotic.

Cazurile în care survine o scădere dramatică a transferinei se întâlnesc mai rar, dar studiul unor astfel de cazuri a contribuit la descifrarea rolului jucat de această beta-globulină în economia fierului. Un astfel de caz a fost descris de I. Baci și colab. în 1960 (1). Subiectul, un bărbat în vârstă de 21 ani, suferind de psoriazis eritrodermic și artropatic, prezenta o anemie hipocromă severă, atrofie exprimată a musculaturii și cașexie (36 kg) precum și o disfagie accentuată (sindrom Plummer-Vinson). Electroforeza proteinelor serice a evidențiat o disproteinemie complexă cu creșterea fracțiunii α_2 și γ , în timp ce fracțiunea β era extrem de scăzută. Deși în plin tratament cu fier (dealtfel ineficient), sideremia era de abia 31 $\mu\text{g/dl}$ iar la imuno-electroforeză, linia de precipitare corespunzând transferinei era la limita decelării. Cazul a fost interpretat ca fiind o perturbare severă a metabolismului fierului cauzată de un deficit de transferină, probabil survenit în cadrul disproteinemiei asociate bolii de bază. În consecință, pe lângă terapia cu cortizon s-a încercat și un tratament substitutiv cu plasmă proaspătă normală, ca sursă de transferină, saturată "in vitro" cu fier. Ameliorarea a fost spectaculară, astfel încât paralel cu creșterea hemoglobinei, jena la deglutiție cedează, iar bolnavul, care înainte era cașectic și incapabil de mișcări active, câștigă în greutate și forță fizică și părăsește spitalul. Examinările ulterioare efectuate la părinții și frații bolnavului nu au evidențiat anomalii ale proteinelor plasmatice sau ale sideremiei.

Această observație clinică și de laborator a sugerat, în urmă cu 36 de ani, că transferina intervine nu numai în favorizarea sintezei hemoglobinei dar și în procesele de captare și incorporare a fierului în mioglobină și în heminele celulare.

S-a demonstrat și existența unui deficit genetic de transferină. De fapt, în cazul fetei descrise de Heilmeyer (10), sideremia oscila între 9-14 $\mu\text{g/dl}$ iar CTFFe era de abia 33 $\mu\text{g/dl}$, fierul adăugat plasmei fixându-se probabil, într-o măsură limitată, pe alte proteine plasmatică, iar transferina fiind nedelcelabilă. Fetița în vârstă de 7 ani prezenta o anemie hipoeromă severă, rezistentă la terapia cu fier, vitamina B₁₂ și corticoizi și era menținută în viață prin transfuzii repetate. Ferocinetica evidenția un clearance extrem de accelerat ($T/2$ de 5 minute) deoarece fierul radioactiv injectat, nefixându-se pe transferină, difuza rapid în țesuturi, pierzându-se totodată prin filtrul renal. Caracterul familial mai probabil autosomal recesiv, era atestat de faptul că la ambii părinți nivelul transferinei serice era de aproximativ jumătate din valorile normale (10).

6.5.3. SUPRAÎNCĂRCAREA CU FIER

Deși relativ mai rar întâlnită decât deficitul de fier, supraîncărcarea cu acest metal nu este lipsită de importanță, iar în anumite condiții implică riscul dezvoltării unor leziuni cu consecințe nefaste. Atât timp cât acumulările de fier se limitează la sistemul macrofagelor, excesul de fier nu duce implicit la leziuni ale celulelor, fenomenul fiind relativ nenociv. O astfel de stare denumită **hemosideroză** se poate întâlni la politransfuzii și în infecții cronice. Dacă, însă, excesul de fier se depune și în organele parenchimatose (hepatocite, pancreas, glande endocrine) se produce o lezare peroxidativă a proteinelor din membrana celulelor, ajungându-se în cele din urmă la sclerizarea organelor supraîncărcate cu fier. Această stare patologică denumită **hemocromatoză** poate surveni fie ca o boală de sine stătătoare cauzată de o absorbție necontrolată și excesivă a fierului și condiționată genetic, fie ca urmare a altor îmbolnăviri care duc în mod secundar la acumulări excesive de fier care ajung să se depună nu doar în macrofage dar și în organele parenchimatose.

Hemocromatoza primară (ereditară, idiopatică) se caracterizează printr-o creștere progresivă a cantității de fier din organism, fierul depunându-se în ficat, miocard, pancreas, glande salivare, piele și glandele endocrine. Ca urmare, se dezvoltă o ciroză hepatică, o insuficiență pluriglandulară, diabet zaharat și o pigmentare brună-cenușie a tegumentelor (diabet bronzat). Pigmentarea pielii se datorează în primul rând acumulării de melanină cauzată de insuficiența suprarenală, iar depunerile de fier contribuie la imprimarea unei nuanțe cenușii metalice a pielii. Acumularea de fier în miocard duce la insuficiență cardiacă, neinfluențată de cardiotonice și care constituie cauza decesului în aproximativ o treime a cazurilor de hemocromatoză. Toate aceste manifestări apar de regulă după vârsta de 40 de ani, fenomen explicabil prin intervalul de timp îndelungat necesar pentru acumularea progresivă de fier. Admițând o absorbție de fier care depășește nevoile eritropoezei și care realizează un bilanț pozitiv al fierului de 2 mg/24 ore (absorbție de 3 mg în loc de 1 mg), acumularea de 20 g de fier (adică de 5 ori normalul de 4 g) ar necesita aproximativ 27 de ani.

Mecanismul intim al creșterii absorbției de fier este încă neelucidat, dar se poate sugera că acesta ar putea fi în legătură cu perturbarea sistemului complex de senzori intracelulari pentru fier care asigură reglarea sintezei proteinelor cu rol în metabolismul fierului. S-a putut însă preciza că această anomalie genetică se transmite autosomal recesiv iar manifestările clinice amintite mai sus se dezvoltă doar la homozigoți. Studii de genetică au demonstrat că gena hemocromatozei este localizată pe cromozomul 6 strâns legată de antigenul de histocompatibilitate (HLA). S-au putut astfel depista și diferenția homozigoții și heterozigoții purtători ai genei hemocromatozei și în mod surprinzător s-a găsit că incidența homozigoților ar fi de 1 la 1000 persoane în USA. Manifestările clinice apar doar la 1 din 5000 de persoane,

probabil și datorită faptului că femeile pierd în cursul vieții lor 16-30 g fier, ca rezultat al ciclurilor menstruale și al sarcinilor. De fapt, incidența hemocromatozei este de 10-20 ori mai redusă la femei decât la bărbați, iar la cele câteva cazuri de femei cu manifestări clinice de hemocromatoză s-au semnalat antecedente de amenoree sau oligohipomenoree. Pe de altă parte, consumul de alcool accelerează încărcarea cu fier a homozigoților afectați de hemocromatoză.

Este deci evident că, pentru a se preveni pe cât posibil instalarea leziunilor parenchimatose ireversibile, ar fi necesară o depistare cât mai precoce a anomaliei genetice prin determinarea tipului HLA, iar atunci când acest procedeu nu este accesibil să se efectueze explorări minuoase ale economiei fierului. Așa cum s-a arătat în tabelul 6.5, hemocromatoza se asociază destul de timpuriu cu creșterea sideremiei, scăderea transferinei și creșterea gradului de saturație cu fier al acesteia (adeseori peste 80% saturație), iar la biopsia hepatică sau cutanată se constată mari cantități de hemosiderină care dau reacția albastru de Prusia. De o mare utilitate s-a dovedit dozarea feritinei serice care în astfel de cazuri depășește 250 $\mu\text{g/l}$ și poate ajunge la 700-800 $\mu\text{g/l}$. Totodată, urmărirea eliminărilor urinare de fier după injecții cu Desferal, un chelator al fierului, evidențiază cantități de peste 5 mg fier în urina de 24 ore, în cazul subiecților afectați de hemocromatoză, pe când în cazul unei hemosideroze fierul urinar eliminat după Desferal nu depășește 3 mg/24 ore. Nu trebuie uitat că în toate cazurile de supraîncărcare cu fier se vor explora funcțiile hepatice, glicemia și starea glandelor endocrine.

Hemocromatozele secundare s-au descris mai ales în cazul unor anemii evoluând cu anomalii în utilizarea fierului. Așa este cazul cu subiecții homozigoți pentru talasemie și la bolnavii cu anemii sideroblastice, când fierul nu este încorporat în hemoglobină. Stimularea eritropoezei prin hipoxie și prin produșii de degradare a hematiilor duce la creșterea absorbției de fier și la creșterea eliberării de fier din macrofage. Dată fiind eritropoeza inefficientă, fierul neîncorporat în hemoglobină se depune atât înapoi în macrofage cât și în organele parenchimatose. În cazurile cu talasemie majoră, încărcarea cu fier survine cu mare rapiditate astfel încât fenomenele clinice (ciroză hepatică, insuficiență cardiacă) apar încă din adolescență. O supraîncărcare cu fier s-a descris și la populația Bantu din Africa de Sud care consumă băuturi alcoolice (bere) preparată în vase de fier și la care s-a decelat o incidență crescută a genii hemocromatozei. Se consideră că leziunile hepatice care se dezvoltă la acești subiecți ar fi cauzate nu numai de excesul de fier dar și de alcoolism și de carența în proteine (2,8,15,16).

Terapia hemocromatozelor trebuie începută cât mai precoce administrându-se chelatori ai fierului ca Deferoxamina B (Desferal). Recent s-au introdus în terapie și alți chelatori ca de exemplu 1,2-dimetil-3-hidroxipiridin-4-onă (deferiprone) care s-au dovedit utili și în terapia malariei.

6.6. METABOLISMUL CUPRULUI

Deși, întocmai ca și fierul, cuprul este un microelement necesar organismului, dozările de cupru se practică relativ rar în laboratoarele clinice, aceste dozări fiind utile mai ales pentru diagnosticul bolii Wilson.

6.6.1. DISTRIBUȚIA ȘI FUNCȚIILE CUPRULUI ÎN ORGANISM

Din cele 100-150 mg de cupru conținute în organismul uman, o bună parte se află în mușchi și oase, fără ca acestor fracțiuni să li se fi atribuit până în prezent o semnificație funcțion-

ală. Raportate însă la gram de țesut uscat, cea mai mare concentrație de cupru (31 $\mu\text{g/g}$) se găsește în ficat, concentrații descrescând evidentându-se și în creier, miocard, rinichi și hematii.

Semnificativ din punct de vedere funcțional este faptul că o serie de enzime tisulare conțin cupru. Așa sunt citocromoxidaza, monoaminoxidaza, tirozinaza și superoxiddismutaza. Aceasta din urmă exercită un important efect de protecție a țesuturilor față de acțiunea potențial toxică a ionilor superoxizi (O_2^-) pe care îi convertește în oxigen și apă oxigenată.

Activitatea enzimatică de tip oxidazic exercită însă o α_2 globulină plasmatică deosebit de bogată în cupru și denumită ceruloplasmină. De fapt, peste 96% din cele 80-130 μg cupru, conținute în 100 ml plasmă, se găsesc încorporate în ceruloplasmină. Fiecare moleculă de ceruloplasmină având o greutate moleculară de 165.000 conține 8 atomi de cupru. Știind că greutatea atomică a cuprului este de 63,546, se poate calcula că, în cazul unei concentrații medii de 36 mg ceruloplasmină conținute în mod normal în 100 ml plasmă, această α_2 globulină încorporează aproximativ 0.115 mg cupru (115 μg).

De notat că spre deosebire de transferină care este un adevărat transportor de fier, ceruloplasmina nu cedează țesuturilor cupru, exercitând însă efecte oxidazice asupra unor polifenoli și amine, inclusiv asupra catecolaminelor și serotoninei. S-a atribuit ceruloplasminei și o acțiune feroxidazică sub acțiunea căreia fierul bivalent trece în formă trivalentă putând astfel forma un complex cu transferina. Importanța acestui mecanism pentru metabolismul fierului este încă greu de apreciat. De fapt, deficitul sever de cupru se asociază cu o anemie hipocromă care cedează doar la tratamentul combinat cu fier și cupru. Pe de altă parte, scăderea marcată a ceruloplasminei constată în majoritatea cazurilor de boală Wilson nu se asociază cu o evidentă anemie hipocromă.

6.6.2. CIRCUITUL CUPRULUI ÎN ORGANISM

Cele 2,5-5 mg cupru, conținute în rația alimentară zilnică, acoperă pe deplin nevoile adultului care sunt aproximativ 34 $\mu\text{g/kg}$ greutate corporală/24 ore. Sugarul și preșcolarul necesită cantități relativ mai mari, fiind în jur de 50 $\mu\text{g/kg/24}$ ore. Întrucât laptele de vacă este foarte sărac în cupru, o alimentație bazată exclusiv pe acest aliment ar putea duce la o carență de cupru. În schimb, alimente cum sunt nucile, ficatul și ciocolata sunt deosebit de bogate în cupru (3,17,18).

Studii efectuate cu ajutorul cuprului radioactiv (^{64}Cu) au demonstrat o absorbție rapidă a cuprului ingerat, procesul fiind favorizat de superoxiddismutază și de o proteină de tipul metalotioneină conținând radicali sulfidril. Pe de altă parte, absorbția cuprului este inhibată de prezența în lumenul intestinal și a sărurilor de molibden (18). Ajuns în plasmă, cuprul se fixează labil pe albuminele serice fiind vehiculat la țesuturi, sub această formă. După 24 de ore de la administrarea izotopului, aproape toată radioactivitatea plasmă se regăsește însă la nivelul α_2 globulinelor, fiind încorporată ceruloplasmină. Acest comportament al cuprului radioactiv sugerează că cea mai mare parte a atomilor de cupru, fixați inițial pe albuminele serice printr-o legătură labilă, va fi captată în ficat, încorporată în ceruloplasmina sintetizată la acest nivel, cuprul reîntorcându-se în plasmă sub această formă. Așa cum s-a arătat anterior, ceruloplasmina nu este un adevărat transportor de cupru, iar metalul încorporat în această α_2 globulină nu participă la schimburi cu țesuturile, fiind scos din circuitul metabolic, până când complexul este degradat în ficat, iar cuprul eliberat din ceruloplasmină se elimină pe cale biliară. De fapt, peste 96% din cuprul ingerat se elimină pe această cale, iar eliminările urinare reprezintă o fracțiune infimă (sub 1% din cuprul ingerat). De notat că o parte a cupru-

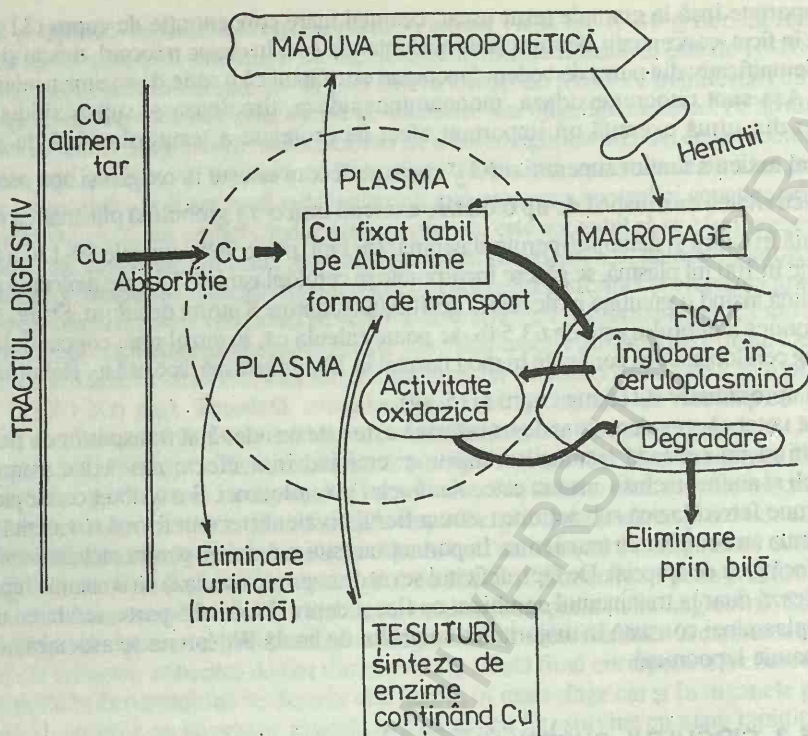


Fig.6.7. Reprezentare schematică a circuitului cuprului în organism. Se poate observa că, spre deosebire de fier, circuitul cuprului nu decurge într-un sistem închis. Din figură reiese că direcția principală a transportului de cupru este spre ficat pentru încorporare în ceruloplasmină. Aceasta este secretată în plasmă unde își exercită activitatea sa oxidazică, fiind apoi captată de ficat și degradată, cuprul eliminându-se prin bilă. Deși reprezintă abia 4% din cuprul plasmatic, forma fixată labil pe albumine asigură transportul spre țesuturi, având un turnover rapid.

lui din sânge se află în eritrocite, mai ales sub formă de superoxiddismutază (18). O reprezentare schematică a circuitului cuprului în organism este reprezentată în fig.6.7.

6.6.3.VARIAȚII FIZIOLOGICE ȘI PATOLOGICE ALE CUPRULUI SERIC ȘI ALE CERULOPLASMINEI

Concentrația cuprului seric oscilează la adulții sănătoși între 90-140 $\mu\text{g/dl}$. Conform recomandărilor SI, o exprimare mai corectă ar fi cea sub formă de $\mu\text{moli/l}$. Ținând cont că greutatea atomică a cuprului este de 63.546, valorile normale ale cuprului seric s-ar situa deci între 14 și 22 $\mu\text{moli/l}$ ($\mu\text{g/dl} \times 0.1574 = \mu\text{moli/l}$). La noul născut valorile cuprului seric sunt mai scăzute fiind în medie de 65 $\mu\text{g/dl}$ (10.2 $\mu\text{moli/l}$), dar aceste valori cresc apoi progresiv, astfel încât la copiii școlari și la adolescenți cuprul seric poate ajunge la 164 $\mu\text{g/dl}$ (26 $\mu\text{moli/l}$). Cuprul fixat labil pe albuminele serice (aproximativ 4% din cuprul seric total) constituie din punct de vedere al laboratorului așa-zisul "cupru direct reactiv" care produce o reacție promptă cu dietilditiocarbamatul, în timp ce cuprul încorporat în ceruloplasmină nu dă reacția de

culoare amintită decât după tratarea serului cu acid clorhidric pentru desfacerea complexului metaloproteic. La ora actuală metoda de elecție pentru determinările de cupru în ser, urină sau țesuturi este spectrofotometria de absorbție atomică.

Concentrația serică a ceruloplasminei (exprimată ca proteină) este de 30-36 mg/dl la adulți, fiind mult joasă la noul născut (adeseori sub 15 mg/dl) dar crescând în cursul copilăriei și adolescenței paralel cu cupremia. Nivelul seric al ceruloplasminei (ca și cel al transferinei) crește mult în cursul ultimelor luni de sarcină, putând depăși 50 mg/dl. Estrogenii și anti-concepționalele orale de natură steroidică produc de asemenea creșteri semnificative ale ceruloplasminei și transferinei serice (17,18).

Creșteri patologice ale cuprului seric și ale ceruloplasminei se întâlnesc în infecții acute și cronice, infarct miocardic, leucemii acute, limfoame maligne și diverse alte procese neoplazice. În astfel de situații ceruloplasmina se comportă ca o proteină de fază acută, creșterea ei corelându-se cu creșterea altor indicatori ai reacției de fază acută, cum sunt fibrinogenul, proteina C reactivă și seromucoizii. De notat că, spre deosebire de ceruloplasmină, nivelul transferinei serice scade în stările menționate mai sus. O creștere importantă a ceruloplasminei survine și în perturbarea eliminării pe cale biliară în colestaza intra- și extrahepatică.

Nivele mai ridicate ale ceruloplasminei se constată și la mulți bolnavi cu cord pulmonar cronic, în cazuri de hipertiroidism sever, în cursul crizelor de delirium tremens al alcoolicilor și în cursul unor crize de epilepsie. Aceste observații par a sugera că sinteza de ceruloplasmină ar fi stimulată atât sub acțiunea citokinelor proinflamatorii cât și ca urmare a unui tonus simpatic patologic crescut.

Scăderi patologice ale cupremiei și ceruloplasminei s-au descris în unele cazuri de carență în cupru (vezi mai jos). În sindromul nefrotic sever, datorită pierderilor urinare, în enteropatia cu pierderi de proteine și în perturbarea gravă a sintezelor hepatice de proteine, așa cum se constată în cursul terapiei cu L-asparaginază a leucemiilor limfoide acute (7) sau în unele ciroze hepatice decompensate survenite la tineri. Întrucât, în boli hepatice, nivelul ceruloplasminei este influențat în sens contrar de factori diferiți (scăderea nivelului în deprimarea globală a sintezei hepatice de proteine, creșteri în colestază și procese inflamatorii) valoarea diagnostică a determinărilor de cupru și ceruloplasmină este mai degrabă redusă la astfel de bolnavi. Determinările de cupru seric și de ceruloplasmină își găsesc însă o certă utilitate în depistarea carențelor de cupru sau a supraîncărcării cu cupru survenită în boala Wilson.

6.6.4. CARENȚA DE CUPRU

Șobolanii și porcii tineri supuși unei diete deficitare în cupru dezvoltă o anemie hipocromă microcitară și sucombă. Se consideră că fenomenele grave care duc la decese nu sunt o consecință directă a anemiei, ci s-ar datora unor perturbări ale sistemelor enzimactice oxidoreductoare dependente de cupru. Sugarii hrăniți exclusiv cu lapte de vacă, un aliment deosebit de sărac în cupru, pot dezvolta o hipocupremie asociată cu diminuarea absorbției de fier, hiposideremie, anemie hipocromă microcitară, hipoproteinemie și edeme. La astfel de copii activitatea oxidativă a ceruloplasminei scade până la valori nule, dar metodele imunochimice sunt în măsură să detecteze prezența în ser a unei proteine cu structura antigenică a ceruloplasminei denumită apoceruloplasmină. Administrând cupru acestor subiecți carența și se ajunge destul de rapid la refacerea activității oxidazice a ceruloplasminei (5,17). Pentru practică este important de știut că unele anemii hipocrome ale sugarului hrănit cu lapte de vacă nu cedează la terapia cu fier, dar sunt influențate favorabil dacă se asociază și o îmbogățire cu cupru a alimentației (2,5 mg sulfat de cupru /zi).

Situația este mai complicată atunci când deficitul de cupru se datorează unei anomalii cu caracter genetic în procesele de absorbție și utilizare a cuprului așa cum survine în boala Menkes. Copiii de sex masculin afectați de această boală genetică, transmisă printr-un mecanism recesiv legat de cromozomul X, prezintă încă înainte de luna a treia de viață perturbări în dezvoltarea fizică și intelectuală, crize convulsive și un păr aspru, fără luciu, țepos, friabil și răsucit, care la palpare dă senzația de sârmă de oțel (steely-hair sau kinky hair syndrome).

Tendința la hipotermie și marea susceptibilitate la infecții fac ca decesul să survină de cele mai multe ori înaintea vârstei de trei ani. Laboratorul evidențiază scăderi ale cuprului seric sub $30 \mu\text{g/dl}$ ($5 \mu\text{mol/l}$) și activități extrem de scăzute ale ceruloplasminei, iar conținutul în cupru al ficatului acestor copii este de abia $19 \mu\text{g/g}$ țesut uscat față de $31 \mu\text{g/g}$ la adultul sănătos și $250 \mu\text{g/g}$ la nou-născutul normal (17).

Administrarea pe cale orală a cuprului radioactiv (^{64}Cu) a arătat că acest metal se acumulează în celulele mucoasei intestinale și doar o mică cantitate trece în sânge. Se pare că defectul de transport al cuprului prin celulele mucoasei intestinale survine și la nivelul transportului transplacentar, ceea ce explică conținutul extrem de scăzut de cupru din țesuturile noului născut cu boala Menkes. Încercările de a evita deficitul de absorbție prin administrare intravenoasă a unor săruri de cupru nu s-au dovedit eficiente. De fapt, după administrarea intravenoasă de ^{64}Cu , izotopul poate fi detectat inițial în hematii dar ulterior este captat de ficat și reținut, astfel încât nu ajunge să remedieze deficitul de cupru al țesuturilor.

Se pare că blocarea cuprului în mucoasa intestinală, iar în cazul administrărilor intravenoase, în ficat, se datorează unei proteine de tip metalotioneină cu structură anormală care imobilizează metalul făcându-l inaccesibil țesuturilor. Ca urmare, se instalează deficite ale sistemelor enzimatic dependente de cupru care sunt responsabile de anomaliile somatice și neurologice. Rezultatele slabe ale terapiei cu cupru injectabil se explică atât prin lipsa de pătrundere a cuprului în țesutul nervos, cât și datorită dezvoltării leziunilor în sistemul nervos încă din viața intrauterină (18).

6.6.5. SUPRAÎNCĂRCAREA CU CUPRU. BOALA WILSON

Boala Wilson (degenerescența hepatolenticulară) este o boală rară, cu caracter familial, afectând ambele sexe și cauzată de o perturbare în metabolismul cuprului. Defectul constă în esență într-o perturbare a incorporării cuprului în ceruloplasmă. Ca urmare, o mai mare proporție de cupru se fixează labil pe albumine și este eliberat oarecum anarhic la nivelul țesuturilor unde se acumulează. Toate manifestările patologice întâlnite în boala Wilson pot fi explicate prin depunerile anormale de cupru mai sus amintite. Astfel, acumularea de cupru în ficat produce leziuni care pot evolua spre ciroză, la nivelul tubilor uriniferi excesul de cupru interferează cu reabsorbția acizilor aminați, iar în stadii mai avansate perturbă reabsorbția glucozei, bicarbonaților, fosfaților și calciului. Un semn caracteristic este dat de prezența unor inele brun-verzii la periferia corneei, consecutive depunerilor de cupru în membrana Descemet (inele Kayser-Fleischer). Cele mai tipice și impresionate manifestări clinice sunt însă cele datorate afectării sistemului nervos cauzate de o acumulare de cupru în nucleii cenușii de la baza creierului. Simptomele încep mai frecvent la pubertate și mai rar la vârsta prescolară și se caracterizează prin deficit de coordonare a mișcărilor, tulburări de vorbire (disartrie), tulburări de deglutiție (disfagie) și mișcări coreiforme.

Investigațiile de laborator evidențiază de cele mai multe ori o scădere a cupremiei sub $70 \mu\text{g/dl}$ (sub $11 \mu\text{mol/l}$) și o scădere a ceruloplasminei (adesca sub 15mg/dl). Caracteristică

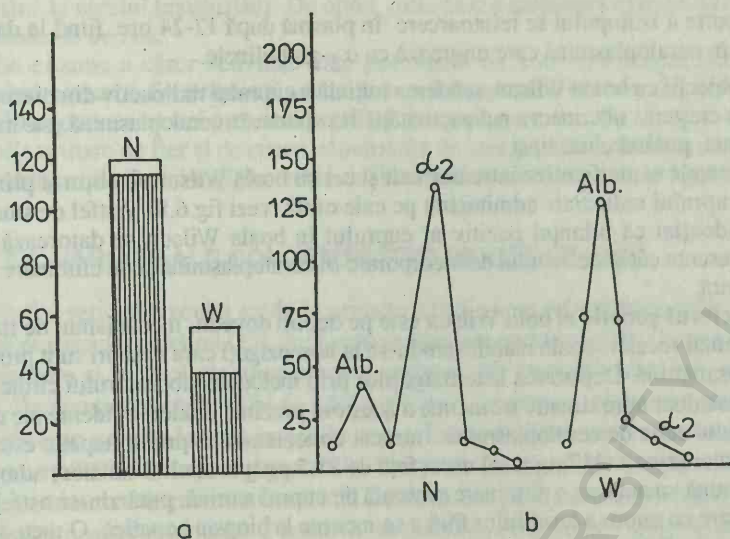


Fig. 6.8. Comportarea fracțiunilor cuprului serie la normali (N) și la pacienți cu boala Wilson (W).
a. Rezultatele obținute prin determinarea chimică a cuprului serie. Coloanele reprezintă cupremia în $\mu\text{g/dl}$. Porțiunea hașurată a coloanelor indică fracțiunea cuprului serie inclusă în ceruloplasmină, iar porțiunea albă constituie o măsură a cuprului legat labil de albumine.
b. Distribuția cuprului radioactiv în fracțiunile electroforetice ale proteinelor serie, la 12 ore de la administrarea orală de ^{64}Cu . După efectuarea electroforezei se măsoară radioactivitatea în fiecare fracțiune electroforetică. Pe ordonată: impulsuri/minut. După Bearn (3).

este creșterea relativă a cuprului neincorporat în ceruloplasmină (cuprul direct reactiv). Această fracțiune de transport a cuprului fixată labil pe albumine poate ajunge la valori de peste 40% din cuprul total, în boala Wilson, în timp ce la normali este de abia 2-4%. De o deosebită valoare diagnostică este urmărirea eliminărilor urinare de cupru, care la subiecții normali se situează, de regulă, sub 0,1 mg/24 h iar la persoanele afectate de boala Wilson pot depăși 1,5 mg/24 h. Eliminările urinare de cupru cresc și mai mult după administrarea de penicilamină ($-\beta$ - β dimetil cisteină), un chelator al cuprului. Cupruria provocată cu penicilamină depășește atât formele de debut cât și cazurile rare de boală Wilson (aproximativ 5%) la care componenta colestatică a suferinței hepatice perturbă captarea și degradarea ceruloplasminei și implicit eliminarea pe cale biliară a cuprului, astfel încât nivelele cupremiei și ceruloplasminei serie se află la limita inferioară a valorilor normale sau sunt nemodificate față de normal. În toate cazurile de boală Wilson biopsia hepatică evidențiază o creștere a conținutului de cupru care depășește de 5-30 de ori valorile de 31 $\mu\text{g/g}$ țesut hepatic uscat găsite în medie la adultul sănătos. De remarcat contrastul între scăderea cupremiei constatată la majoritatea cazurilor de boală Wilson și creșterea excesivă a cuprului din țesuturi și mai ales din ficat.

Studii de cinetică a cuprului, efectuate cu isotopi radioactivi ai cuprului, au demonstrat că, în primele minute de la administrarea intravenoasă de ^{64}Cu , radioactivitatea este legată de albuminele serie atât la normali cât și la subiecții afectați de boală Wilson. Radioactivitatea plasmei scade apoi rapid, în urma captării cuprului în țesuturi, iar la persoanele normale, cea

mai mare parte a izotopului se reîntorcere în plasmă după 12-24 ore, fiind la data aceasta încorporat în ceruloplasmină care migrează cu α_2 -globulinele.

La subiecții cu boala Wilson, scăderea inițială a cuprului radioactiv din plasmă decurge mai lent, iar creșterea ulterioară a radioactivității încorporate în ceruloplasmină este mult întârziată și limitată, putând chiar lipsi.

Diferențele semnificative între normali și cei cu boala Wilson se obțin și prin studii de cinetică a cuprului radioactiv administrat pe cale orală (vezi fig.6.8). Astfel de studii cu izotopi au evidențiat că bilanțul pozitiv al cuprului în boala Wilson se datorează atât unei absorbții crescute cât și deficitului de încorporare în ceruloplasmină și de eliminare ulterioară pe cale biliară.

Caracterul genetic al bolii Wilson este pe deplin dovedit, mecanismul de transmitere fiind autosomal recesiv, boala manifestându-se la homozigoți care deseori sunt proveniți din căsătorii cosanguine. Depistarea heterozigoților prin metodele laboratorului clinic este dificilă, deoarece doar aproximativ o cincime a acestora prezintă scăderi evidente ale cupremiei și ale nivelului seric de ceruloplasmină. Întrucât concentrația cuprului hepatic este crescută chiar și la heterozigoți (117 $\mu\text{g}/\text{țesut uscat}$ față de 31.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ la adultul sănătos) administrarea de penicilamină va antrena o eliminare crescută de cupru în urină, putându-se astfel decela o supraîncărcare cu cupru a țesuturilor fără a se recurge la biopsia hepatică. O metodă elegantă de depistare a heterozigoților se bazează pe deficitul de încorporare a cuprului radioactiv în ceruloplasmină. Astfel, la subiecții heterozigoți pentru boala Wilson raportul între radioactivitatea plasmei constatată la 24 ore de la administrarea orală de ^{64}Cu și radioactivitatea măsurată la 1-2 ore de la ingerarea izotopului radioactiv este de abia jumătate din valoarea raportului obținut la adulții normali (3,17). Este de așteptat ca introducerea pe scară largă a tehnicilor de biologie moleculară să amelioreze în mare măsură posibilitățile de depistare a acestei boli genetice.

Terapia bolii Wilson vizează reducerea supraîncărcării cu cupru, limitându-se ingestia de alimente bogate în cupru și favorizându-se eliminarea pe cale urinară a cuprului cu ajutorul unor chelatori cum sunt penicilamina și BAL (British antilewisite, dimercaprol). Întrucât succesul terapiei depinde de precocitatea aplicării ei, se consideră că administrarea tratamentului chelator ar fi indicată la toți copiii proveniți din familiile afectate de boala Wilson, atunci când prezintă o ceruloplasmină serică sub 20 mg/dl, o concentrație a cuprului hepatic de peste 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ țesut uscat, o eliminare anormal crescută de cupru urinar după administrarea de penicilamină sau anomalii decelabile prin tehnici de biologie moleculară.

6.7. METABOLISMUL ZINCULUI

Deși concentrația de zinc din organism este de 28 mg/kg masă corporală lipsită de grăsime, fiind de aproximativ 17 ori mai mare decât cea de curpu (1.7 mg/kg masă corporală), datele privind semnificația fiziologică a zincului și implicațiile patogenice ale variațiilor conținutului de zinc sunt încă destul de puțin elucidate. Cea mai mare parte a zincului din organism se găsește în musculatură, ficat, rinichi și pancreas, iar concentrația plasmatică de zinc oscilează între 72-115 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (11-17.6 $\mu\text{moli}/\text{l}$) fiind similară concentrației plasmatică a cuprului. Aproximativ 30-40% din zincul seric este legat de α_2 -macroglobulină, cam 1% este complexat de cisteină și histidină, iar restul este fixat labil pe albumine. De notat că hematiile conțin importante cantități de zinc (în medie 12.4 mg/l eritrocite sau 190 $\mu\text{moli}/\text{l}$) și că scăderea zincului eritrocitar reduce afinitatea hemoglobinei față de oxigen favorizându-se astfel eliberarea

oxigenului la nivelul țesuturilor. De altfel, anhidraza carbonică eritrocitară este o enzimă dependentă de zinc.

Alte enzime a căror activitate este potențată de zinc sunt fosfataza alcalină și alcooldehidrogenaza. Se atribuie zincului și un rol important în sinteza acizilor nucleici și implicit în reglarea sintezei proteinelor (18). Este important de știut că, spre deosebire de eliminările urinare de fier și de cupru, eliminările de zinc pe cale urinară sunt relativ importante fiind în medie de 0,5 mg/24 ore dar oscilând în limite largi între 0,145 și 1,25 mg/24 ore.

6.7.1. VARIAȚII ALE CONCENTRAȚIEI SERICE DE ZINC

Nivelul seric al zincului scade în primele zile ale unui infarct miocardic (18) sau după un accident vascular cerebral (20), după intervenții chirurgicale majore, în cursul unor infecții acute, precum și în evoluția unor procese maligne (de exemplu leucemii, carcinom pulmonar). De menționat că în astfel de stări patologice, cupremia crește și se poate presupune că modificările suferite în sens invers de către cele două metale se pot încadra în reacția de fază acută mediată de citokine. Între altele, reacția de fază acută se caracterizează și printr-o comutare a sintezei de proteine la nivelul ficatului în sensul creșterii producției de fibrinogen, α_1 -antitripsină și proteină C reactivă, în timp ce colinesteraza serică și albumina (care fixează o parte a zincului seric) au tendința să scadă. De notat că nivelul seric al zincului ca și cel al albuminei și al colinesterazei serice scad în mod evident în cirozele hepatice decompensate (18). S-a putut stabili de altfel o corelație între nivelul seric de zinc, pe de-o parte, și concentrația de albumină serică și activitatea colinesterazei serice, pe de altă parte (20).

6.7.2. DEFICITUL DE ZINC

Deficitul de zinc poate surveni fie printr-un aport insuficient, fie printr-o exagerare a pierderilor urinare. Se pare că ambele mecanisme intervin în cazul alcoolicilor.

Deficitul de zinc datorat doar unui aport insuficient survine doar în mod excepțional, ca de exemplu în cazul unei nutriții parenterale sau a unei diete artificiale, cum ar fi dieta sintetică la copiii cu fenilketonurie. S-au descris însă cazuri cu carență cronică de zinc în unele țări ca Iranul sau Egiptul. În astfel de cazuri se incriminează un complex de factori cauzali între care concentrația scăzută de zinc din apă, dieta bogată în rezidii vegetale (celuloză, acid fitic), la care se adaugă uneori obiceiul de a ingera lut (geofagie) și care întocmai ca acidul fitic reduc absorbția mineralelor și implicit a zincului. Bolile intestinului subțire evoluând cu malabsorbție pot duce și ele la o carență de zinc. Pe de altă parte, reducerea capitalului de zinc poate surveni și ca urmare a unor pierderi urinare așa cum se constată în sindromul nefrotic, la alcoolici și după un tratament prelungit cu diuretice (12,18,19).

Manifestările clinice ale deficitului de zinc diferă în funcție de gravitatea deficitului și de rapiditatea cu care s-a instalat acest deficit. În cazul unei depleții acute aspectul clinic este caracterizat prin diaree, stări depresive, dermatită eczematosă perinazală și periorală precum și alopecie, toate aceste manifestări patologice cedând după câteva zile de la începutul unui tratament cu zinc.

Deficitul cronic semnalat la anumite grupuri de populație din Iran, Egipt și Turcia evoluează cu întârzierea în creștere, anemie hipocromă și hipogonadism. La aceste fenomene se adaugă o încetinire a vindecării plăgilor, un anumit grad de deficit al imunității celulare și

difficultăți în adaptarea vederii la întuneric cauzată de o perturbare a metabolismului vitaminei A (18).

6.7.3. ACRODERMATITA ENTEROPATICĂ

Importanța zincului pentru economia organismului este ilustrată de existența unei anomalii cu caracter genetic caracterizată prin perturbarea severă a absorbției zincului și denumită acrodermatită enteropatică. Această eroare innăscută de metabolism are un mecanism de transmitere autosomal recesiv și se exprimă prin diaree, alopecie și leziuni erozive în jurul orificiilor (nazal, bucal, anal) precum și cruste localizate pe coate, genunchi și glezne. Aceste fenomene apar la scurt timp de la întârcare și trecerea la o alimentație cu lapte de vacă. Ulterior se asociază tulburări de vedere (fotofobie, evitarea viziunii centrale), întârziere în creștere și aspect general de malnutriție. Toate aceste manifestări sunt similare celor cauzate de o depleție câștigată de zinc, iar Moynahan și Barnes (14) au semnalat nivele extrem de scăzute ale zincului seric (40 $\mu\text{g/dl}$ respectiv 6 $\mu\text{mol/l}$).

Administrarea săunilor de zinc a produs o ameliorare dramatică a situației. Se consideră că subiecții afectați de acrodermatită enteropatică prezintă o anomalie în structura unei proteine secretate de pancreas cu rol de legare a zincului, facilitând astfel absorbția acestui metal. S-a mai arătat că laptele de mamă, dar nu și cel de vacă, conține o proteină care leagă zincul și care este similară cu cea din pancreasul subiecților sănătoși. Se explică astfel apariția fenomenelor descrise mai sus, la scurt timp de la oprirea alimentației la sân.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Baci I., Cucuianu M., Prundeanu C.: Bociat T. Atransferrinémie transitoire chez un jeune homme. *Rev. Roum. Med. Int.*, 1965, 2: 291-297.
2. Bauer J.D. Hemoglobin, porphyrin and iron metabolism. In Kaplan and Pesce (Editors). *Clinical Chemistry* C.V. Mosby Company St. Louis-Toronto-Princeton, 1984, pp. 633-639.
3. Bearn A.G. Wilson's disease in Stanbury, Wyngaarden and Fredrickson (Editors). *The metabolic basis of inherited disease* ed. III, Blakiston Division, Mc Graw Hill Book Company, New York, 1972.
4. Brittenham G.M. New advances in iron metabolism, iron deficiency and iron overload. *Current opinion in Hematology*, 1994, 1: 101-106.
5. Burch R.E., Hahn H.K., Sullivan J.F.: Newer aspects of the roles of zinc, manganese and copper in human nutrition. *Clin. Chem.*, 1975, 21: 501-507.
6. Cook J.D., Skikne B.S., Baynes B.D. Serum transferrin receptor. *Ann. Rev. Med.*, 1993, 44: 63-74.
7. Cucuianu M., Olinic N., Goia A., Fekete T. *Biochimie clinică*. Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1979.
8. Finch C.A. and Hueber H. Perspectives in iron metabolism. *N. Eng. J. Med.*, 1982, 306: 1520-1528.
9. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood* 1994, 84: 1697-1702.
10. Heilmeyer L. Altes und Neues von Eisenstoffwechsel, Münch, Med. Wschr., 1965, 17: 805-813.
11. Klausner R.D., Rouault T.A., Harford J.B. Regulating the fate of mRNA. The control of cellular iron metabolism. *Cell*, 1993, 72: 19-28.
12. McClain C., Soutor C., Zieve L. Zinc deficiency a complication of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 1980, 78, 272-279.
13. Menkes J.H., Alter M., Steingleder G.K., Weakley D.R., Sung G.H. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal and cerebellar degeneration. *Pediatrics* 1962, 29: 764-774.
14. Moynahan E.J., Barnes P.M. Zinc deficiency and a synthetic diet for lactose intolerance. *Lancet* 1973, 1: 676-685.
15. Powell L.W. The role of alcoholism in hepatic iron storage. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1979, 252: 124-134.

16. Pollicove M. Hemochromatosis. In Stanbury, Wyngaarden and Fredrickson (Editors). The metabolic basis of inherited disease Mc Graw-Hill Book Co. New York, 1978.
17. Sass-Kortsak J., Bearn A. Hereditary disorders of copper metabolism. In Stanbury, Wyngaarden and Fredrickson (Editors). The metabolic basis of inherited disease Mc Graw-Hill Book Co. New York, 1978.
18. Taylor A. The biochemistry and toxicology of heavy metals. In Williams and Marks (Eds). Biochemistry in clinical practice. Heinemann Medical Books Limited, London, 1983, pp. 347-362.
19. Thomson A.D., Majumdar S.K. The influence of ethanol on intestinal absorption and utilization of nutrients. Clin. Gastroenterol., 1981, 10: 263-270.
20. Uza G., Comes L., Uza D., Pop O. Serum Zinc and copper in patients with cerebral vascular disease. Rev.Roum.Med.Int., 1995, 33, 19-26.
21. Wick M., Pinggera W., Lehmann P. Ferritin im Eisenstoffwechsel. Springer Verlag Wien, New York, 1991.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliți corespondența între noțiunile de mai jos și definiția lor:

A. Transferină

I. alfa₂-globulină conținând cupru, dotată cu activitate oxidazică

B. Apoferitină

II. beta₁-globulină cu rol în transportul fierului

C. Ceruloplasmină

III. Proteină cu rol în fixarea și depozitarea fierului

d. Hemosiderină

IV. Feritină supraîncărcată cu fier care dă o coralație albastră cu fericianura de potasiu

2. Creșterea concentrației intracelulare de fier are drept urmare:

A. Creșterea sintezei de apoferitină

B. Creșterea numărului de receptori pentru transferină

C. Creșterea sintezei de acid deltaaminolevulinic în elementele eritroide

D. Toate acestea

E. Nici una.

3. Femeie de 34 de ani care a născut 3 copii în decurs de 5 ani prezintă:

Hemoglobină 12 g/dl, Sideremie 80 μg/dl; Capacitate totală de fixare a fierului (CTFF) 360 μg/dl; Feritina serică 18 μg/l. Un astfel de buletin cadrează cu:

A. Carență latentă de fier

B. Anemia feriprivă

C. Hemocromatoză

D. Inflamație cronică

4. Stabiliți corespondența între buletinele de mai jos și starea cu care cadrează:

- | | |
|---|-----------------------------|
| A. Sideremie 30 $\mu\text{g/dl}$; CTFF 440 $\mu\text{g/dl}$; Feritină serică 12 $\mu\text{g/l}$ | I. Deficit sever de fier |
| B. Sideremie 250 $\mu\text{g/dl}$; CTFF 255 $\mu\text{g/dl}$; Feritină serică 700 $\mu\text{g/l}$ | II. Inflamație cronică |
| C. Sideremie 80 $\mu\text{g/dl}$; CTFF 380 $\mu\text{g/dl}$; Feritină serică 17 $\mu\text{g/l}$ | III. Supraîncărcare cu fier |
| D. Sideremie 50 $\mu\text{g/dl}$; CTFF 220 $\mu\text{g/dl}$; Feritină serică 240 $\mu\text{g/l}$ | IV. Carență latentă de fier |

5. Încetinirea procesului de clearance plasmatic al fierului radioactiv se observă în:

- A. Anemia feriprivă
 - B. Anemia megaloblastică
 - C. Anemia sideroblastică
 - D. Anemia aplastică
 - E. În toate aceste situații
 - F. În nici una
6. Într-un deficit de fier la o femeie de 36 de ani care nu a ajuns încă la anemie hipocromă microcitară pot surveni următoarele manifestări clinice și riscuri:

- A. Stare de iritabilitate și tahicardie prin creșterea concentrației de catecolamine
- B. Stare de frilozitate și lipsa secreției de triiodotironină după expunerea la frig
- C. Stare de fatigabilitate asociată unei diminuări a activității alfa-glicerofosfat oxidazei
- D. Riscul de a naște copii hipotrofici
- E. Risc sporit de intoxicație în caz de expunere la plumb, cadmiu, stronțiu
- F. Toate acestea
- G. Nici una.

7. Faptul că hemocromatoza se întâlnește de 10-20 ori mai frecvent la bărbați decât la femeie se explică prin aceea că:

- A. Hemocromatoza este o afecțiune genetică care se transmite printr-un mecanism legat de sex (respectiv pe cromozomul X)
- B. Femeile pierd în cursul vieții aproximativ 10-30 g fier prin sângele menstrual
- C. Ambele explicații sunt valabile
- D. Nici una din ele.

8. Afectarea ficatului cu evoluție spre ciroză, diabetul bronzat și atrofia testiculară întâlnită la bărbații cu hemacromatoză se datorează:

- A. Depunerilor de fier sub formă de feritină
- B. Prezenței de atomi de fier liberi care lezează membranele celulare printr-un efect de peroxidare
- C. Ambele explicații sunt valabile
- D. Nici una

9. Creșterea feritinei serice se poate întâlni în:

- A. Supraîncărcare cu fier (Hemocromatoză)
- B. Proces inflamator cronic
- C. Leziune hepatică
- D. Toate aceste situații
- E. Nici una.

10. Stabiliți corespondența între anomaliile unor microelemente și bolile cu care se asociază:

- | | |
|---|-------------------------------|
| A. Carență severă de cupru condiționată genetic | I. Boala Wilson |
| B. Carență severă de zinc | II. Boala Menkes |
| C. Supraîncărcare cu cupru | III. Acrodermită enteropatică |

11. Scăderea cupremiei și a ceruloplasminei serice asociată cu o creștere relativă a cuprului legat la bil de albumine (cupru direct reactiv) la valori de aproximativ 40% din cuprul seric total sugerează:

- A. Sindromul nefrotic
- B. Carență de cupru
- C. Un proces neoplazic
- D. Boala lui Wilson
- E. Toate aceste stări patologice
- F. Nici una din ele

12. Care din investigațiile de laborator de mai jos este cel mai constant modificată în boala lui Wilson fiind detectabilă atât în formele de debut cât și în formele în care suferința hepatică are un caracter colestatic:

- A. Scăderea cupremiei
- B. Scăderea ceruloplasminei
- C. Creșterea cupremiei
- D. Cuprurie marcată după penicilamină

13. Reacția de fază acută întârziată în cursul unui proces inflamator acut, în cursul unui infarct miocardic, în cursul unei leucemii acute, sau a unui limfom malign se asociază cu:

- A. Creșterea nivelurilor plasmatice de cupru și zinc
- B. Scăderea simultană a nivelurilor plasmatice de cupru și zinc
- C. Creșterea cupremiei și scăderea concentrației plasmatice de zinc
- D. Stările patologice menționate mai sus nu afectează nivelele plasmatice de cupru și de zinc.

14. Stabiliți corespondența între starea patologică și terapia indicată:

- | | |
|-----------------------------|-------------------|
| A. Hemocromatoză | I. Sulfat de zinc |
| B. Boala lui Wilson | II. Penicilamină |
| C. Acrodermită enteropatică | III. Desferal |

15. Controlul conținutului în fier din organismul unui bărbat adult se realizează mai ales prin reglarea absorbției de fier deoarece eliminările de fier ale bărbatului sunt minime și nereglabile.
16. Deficitul de fier duce la creșterea producției de transferină și de receptori celulari pentru transferină deoarece deficitul de transferină se soldează cu o anemie feriprivă rezistentă la terapia cu fier.
17. În boala Wilson se constată de regulă o scădere a cupremiei și a ceruloplasminei serice deoarece în această anomalie genetică nu se absoarbe cuprul din intestin.
18. În hemocromatoza primară se constată o creștere importantă a colinesterazei serice deoarece depunerea de fier în organele parenchimatose duce cu timpul la ciroză hepatică decompensată.
19. Ceruloplasmina serică scade evident în cursul reacției de fază acută deoarece citokinele proinflamatorii reduc sinteza hepatică a acestei enzime precum și sinteza de α_1 AT.
20. Femeile cu deficit de fier acuză frecvent o senzație de frig (frilozitate) deoarece expunerea lor la rece nu determină o secreție adecvată de hormoni tiroidieni și nu își activează termogeneza.
21. În boala Wilson cuprul se depune în parenchimul hepatic și în nucleii cenușii de la baza creierului deoarece survine o creștere a eliminărilor urinare de cupru care se accentuează după administrarea de penicilină.

Cheia la întrebările 15-21

- a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
e. ambele afirmații incorecte

7. METABOLISMUL CALCIULUI, FOSFORULUI ȘI MAGNEZIULUI

Cea mai mare parte a calciului (90%) și a fosforului (85%), precum și aproximativ jumătate din cantitatea de magneziu din organism se găsesc în oase. Cu toate acestea, respectivele elemente îndeplinesc nu doar un rol structural ci dețin numeroase roluri fiziologice. Astfel, ionii de calciu intervin în modificarea permeabilității membranelor celulare și capilare, scad excitabilitatea neuromusculară și sunt necesari pentru contracția miocardului. Ionii de calciu intervin și în activarea unor sisteme enzimatică, inclusiv cele implicate în coagulare.

Metabolismul calciului se intrică strâns cu cel al fosforului (sub formă de fosfați), iar raportul dintre cele două elemente influențează absorbția lor intestinală și depunerea lor în oase sub formă de complexe insolubile. Pe de altă parte, fosfații participă la formarea unor sisteme tampon, precum și la formarea legăturilor fosfatice macroergice (ATP, creatinfosfat).

Magneziul intracelular joacă un important rol catalitic în reacțiile enzimatică implicate în sinteza proteinelor și eliberarea de energie. Frațiunea extracelulară a magneziului (aproximativ 1%) intervine împreună cu calciul în modularea excitabilității neuromusculare.

Din aceste considerente calciul, fosfații și magneziul vor fi discutați în același capitol.

7.1. DATE REFERITOARE LA FIZIOLOGIA CALCIULUI

7.1.1. REPARTIZAREA CALCIULUI ÎN ORGANISM

Calciul se găsește în organism în cantități mai mari decât oricare alt cation (1100 g calciu comparativ cu 80 g sodiu). Deoarece majoritatea calciului se găsește sub formă de complexe insolubile, nu este recomandabil ca valorile calciului total să se exprime în mEq/l. Cea mai mare parte a calciului (peste 1000 g) este cantonată în țesutul osos. Aproximativ 10 g de calciu se găsesc intracelular, iar mai puțin de 1 g se află în sectorul extracelular (plasmă, lichid interstițial, țesut conjunctiv). La ora actuală mai bine studiate sunt calciul din țesutul osos și calciul plasmatic.

7.1.1.1. CALCIUL DIN OASE

Oasele sunt constituite dintr-o matrice organică (reprezentând aproximativ 30% din greutatea unui os compact) impregnată cu săruri de calciu. Matricea proteică este alcătuită în proporție de 90-95% din fibre de collagen, restul fiind constituit dintr-o substanță fundamentală conținând proteoglicani (în special acid hialuronic și condroitinsulfat). Matricea organică este

impregnată cu săruri de calciu complexe a căror formă cristalizată ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) este identică cu hidroxiapatita.

Calcificarea oaselor. Stadiul inițial în producerea de către osteoblaste a țesutului osos constă în secreția de collagen, proteoglicani și glicoproteine care alcătuiesc matricea extracelulară a osului. Se ajunge astfel la formarea unui țesut asemănător cartilagiului și numit osteoid. O glicoproteină particulară din matricea extracelulară a osului este osteocalcina, care fiind dotată cu grupări gama-carboxiglutamice (două grupări carboxil legate la același atom de carbon în poziția gama) poate fixa calciul bivalent. De notat că formarea radicalilor gama-carboxil-glutamici din osteocalcină depinde de vitamina K, iar tratamentul gravidei cu antagoniști ai vitaminei K (anticoagulante orale) se soldează cu malformații osoase ale fătului.

În câteva zile de la formarea osteoidului, sărurile de calciu precipită la suprafața fibrelor de collagen. Inițial, aceste săruri sunt sub formă amorfă, necristalizată, suferind ulterior procese de restructurare ce conduc la formarea cristalelor de hidroxiapatită în decurs de săptămâni sau luni. Totuși, 20-30% din sărurile de calciu rămân permanent sub formă amorfă, acestea putând fi rapid mobilizate la nevoie spre lichidul extracelular. Țesutul osos este supus unei remanieri permanente, interesând atât matricea proteică cât și sărurile de calciu, care sunt continuu resorbite și regenerate. În aceste procese intervin osteoblastele, celule formatoare de os și osteoclastele, celule cu proprietăți fagocitare și resorbitive. Acestea din urmă produc enzime proteolitice care lizează matricea organică a osului și eliberează săruri minerale.

Întrucât collagenul matricii organice conține doi aminoacizi, hidroxiprolina și hidroxilizina, care nu se găsesc în alte proteine, eliminarea urinară a acestora poate furniza informații despre viteza de catabolizare a proteinelor din țesutul osos (18).

Osteoblastele, celule implicate în osteogeneză, secretă fosfatază alcalină, care hidrolizează fosfații organici (esteri ai acidului fosforic, ca de exemplu fosfoetanolamina din structura cefalinelor). Fosfatul anorganic (Pi) eliberat precipită cu calciul sub formă de fosfați de calciu insolubili. Țesutul osos mai conține și ioni de magneziu, potasiu, carbonat, complexați în cristalele de hidroxiapatită. De asemenea, în oase se pot fixa plumb și unele elemente radioactive (uraniu, radiu, stronțiu).

7.1.1.2. CALCIUL PLASMATIC

Se găsește în cantitate de 10 mg/dl, respectiv 5 mEq/l, sau mai corect 2,5 mmoli/l. Aproximativ jumătate din această cantitate este fixată pe proteine sub formă neionizată și nedifuzibilă, constituind o formă inactivă fiziologic. O cantitate mică de calciu este difuzibilă dar neionizată, fiind reprezentată de citrați și carbonați de calciu. Restul calciului plasmatic (aproximativ 1,9 - 2,5 mEq/l (respectiv 0,95-1,25 mmoli/l) se găsește sub formă ionică și constituie fracțiunea fiziologică activă în procesele de hemostază și de reglare a excitabilității neuromusculare.

La ora actuală calciul ionic poate fi determinat direct, utilizând electrozi selectivi. Pentru laboratoarele care nu dispun de această posibilitate, valoarea calciului ionic poate fi determinată cu aproximație, ținându-se cont de concentrația proteinelor plasmatice, după următoarea formulă:

$$\text{Ca}^{++} = \frac{6\text{Ca} - \frac{\text{Pr}}{3}}{\text{Pr} + 6}$$

în care:

Ca = calcemia în mg/dl; Pr = proteinemia în g/dl.

De exemplu: $\text{Ca} = 10 \text{ mg/dl}$ (5 mEq/l), iar $\text{Pr} = 7 \text{ g/dl}$. Calciul ionic va fi:

$$\text{Ca}^{++} = \frac{6 \times 10 - \frac{7}{3}}{7 + 6} = 4,4 \text{ mg/dl sau } 2,2 \text{ mEq/l}$$

Fracțiunea ionizată a calciului seric tinde să scadă în caz de alcalinizare a sângelui, când capacitatea proteinelor de a fixa calciul crește (14, 17, 29).

7.1.2. ECHILIBRUL CALCIULUI ÎN ORGANISM

Cantitatea totală de calciu din organism depinde de echilibrul între aport și pierderi. Studii cu izotopi au arătat că între compartimentele calciului există un schimb permanent, putând atinge o intensitate de 100-300 mg/oră. Întrucât absorbția intestinală și excreția urinară de calciu sunt mult inferioare acestor cifre, rezultă că homeostazia calciului se realizează în special prin schimburile rapide între calciul din lichidul plasmatic și cel din compartimentele osoase și celulare (14).

Aportul de calciu este în funcție de regimul alimentar și de capacitatea de absorbție a intestinului. Alimente bogate în calciu sunt: laptele, brânzeturile, gălbenușul de ou, nucile. O serie de factori interferează cu absorbția intestinală a calciului, cum ar fi prezența în lumenul intestinal a unei cantități mari de oxalați (din spanac) de fosfați, de acid fitic (din cereale), de fibre alimentare. Absorbția calciului este diminuată și în cazul consumului unor medicamente cum ar fi tetraciclina sau doxiciclina, iar un exces de acizi grași în intestin (cum este cazul în steatoree sau în deficitul de bilă) favorizează formarea săpunurilor insolubile de calciu, scăzând absorbția acestuia. Vitamina D este necesară pentru o bună absorbție intestinală a calciului.

Absorbția calciului din lumenul intestinal are loc prin mai multe mecanisme, realizându-se prin difuzie ionică pasivă, transport activ și difuzie facilitată. Necesitățile de calciu sunt de 600-800 mg/zi pentru un adult. În perioada sarcinii și alăptării se recomandă un aport de 1200-1300 mg/zi, iar în copilărie necesarul zilnic de calciu este de 800-1200 mg. La ora actuală se pune accentul și pe suplimentarea aportului de calciu la persoanele vârstnice, în special la femeile în perioada postmenopauză pentru a preveni sau a atenua manifestările osteoporozei, recomandându-se un aport de 1600-1800 mg/zi (16).

Pierderile de calciu se realizează prin urină și fecale. Calciul fecal e constituit atât din calciul alimentar neabsorbit, cât și din cel secretat activ în intestin. Excreția urinară de calciu este de 100-200 mg/24 ore ($5-10 \text{ mEq}$) și depinde de conținutul în calciu al alimentelor. Se poate vorbi despre calciurie când eliminările urinare de calciu depășesc 200 mg/24 de ore în cazul unui regim alimentar liber, și 150 mg în cazul unui regim alimentar cu restricție de calciu (14). Excreția urinară este accentuată de către hipercalcemie, hipofosfatemie, acidoză precum și de un exces de glucocorticoizi. Parathormonul, unele diuretice și probabil vitamina D diminuează eliminarea urinară de calciu (16). Aproximativ $2/3$ a calciului din filtratul glomerular este reabsorbit în porțiunea ascendentă a ansei Henle și în tubii distali, în funcție de nivelul calcemiei, rolul major în controlul ratei de excreție a calciului fiind jucat de parathormon.

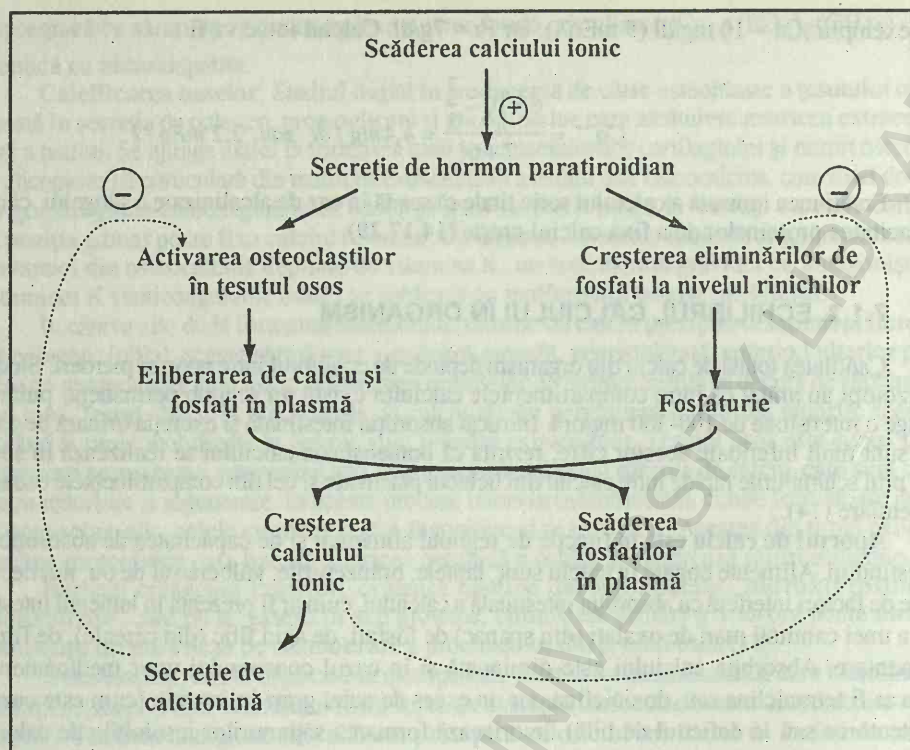


Fig. 7.1. Mecanismele de reglare a calcemiei (linia întreruptă reprezintă inhibiția).

7.1.3. REGLAREA CALCEMIEI

Principalul factor de reglare a calcemiei este reprezentat de hormonul paratiroidian. Calcitonina, produsă în glanda tiroidă, are efecte opuse asupra nivelului calcemiei. Principala țintă de acțiune a acestor hormoni o constituie rezerva de calciu din oase (12, 14, 17). Vitamina D crește absorbția calciului din intestin și în cantități fiziologice favorizează acțiunea parathormonului (9). În figura 7.1. sunt reprezentate schematic mecanismele de reglare a calcemiei.

7.1.3.1. HORMONUL PARATIROIDIAN (PTH)

Acest hormon polipeptidic secretat de glandele paratiroide are ca efect fiziologic creșterea calciului ionizat în sânge, prin acțiunea sa asupra unor organe țintă: os, rinichi și într-o oarecare măsură intestin.

La nivel osos PTH acționează în două etape. Prima fază, foarte rapidă, duce la eliberarea promptă a fosfaților de calciu din sărurile amorfе, prin activarea unei pompe de calciu. A doua etapă, mai lentă (zile sau chiar săptămâni), constă în activarea osteoclastelor, conducând la resorbția osului (inclusiv matricea organică). Efectul parathormonului de stimulare a osteoclastelor (care nu au receptori de membrană pentru PTH) se realizează indirect, prin

intermediul osteoblastelor - celule prezentând receptori pentru acest hormon - care transmit osteoclastelor un semnal ce le activează (15). Aceste evenimente metabolice au drept consecință creșterea calciului și fosfaților în lichidul extracelular.

La nivelul rinichilor, parathormonul duce la o eliminare urinară crescută a fosfaților, cu hipofosfatemie consecutivă. Paralel cu diminuarea reabsorbției renale a fosfaților, parathormonul determină creșterea reabsorbției tubulare de calciu.

La nivel intestinal, PTH crește atât absorbția calciului cât și pe cea a fosfaților. Această acțiune exercitându-se indirect, prin intermediul formei active a vitaminei D - $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ - formată în rinichi sub acțiunea parathormonului.

Efectele parathormonului asupra organelor țintă se exercită prin intermediul AMP ciclic ca mesager de ordinul doi.

Reglarea secreției de parathormon este realizată în primul rând prin nivelul calcemiei. Rata de secreție a PTH este invers dependentă de concentrația calciului extracelular. Scăderea calcemiei stimulează secreția de parathormon, iar creșterea calcemiei diminuează producția acestuia.

Acest mecanism feed-back este extrem de sensibil la variații foarte mici ale calcemiei. Glandele paratiroide reacționează prompt (în decurs de minute) la scăderea calcemiei prin creșterea secreției de PTH, iar dacă hipocalcemia persistă, glandele se hipertrofiază. Așa este cazul în rahitism, sarcină și lactație. Pe de altă parte, orice situație în care concentrația calciului este crescută duce la scăderea activității și reducerea dimensiunilor glandelor paratiroide. Acest fenomen survine în: 1) aportul alimentar crescut de calciu; 2) aportul crescut de vitamină D și 3) resorbția osoasă cauzată de alți factori decât PTH (de exemplu o imobilizarea prelungită).

7.1.3.2. CALCITONINA

Calcitonina este un hormon polipeptidic secretat de celulele parafoliculare ale tiroidei (celule C).

Calcitonina reduce concentrația plasmatică a calciului prin două mecanisme distincte. Primul mecanism se realizează prin scăderea acțiunii resorbitive a osteoclastelor, favorizând astfel depunerea calciului în rezervorul de săruri osoase. Al doilea efect al calcitoninei constă în inhibarea formării de noi osteoclaste. Întrucât scăderea numărului de osteoclaste antrenează în timp și diminuarea numărului osteoblastelor, rezultatul este o reducere globală a activității osteoclastice și osteoblastice osoase, fără să apară un efect semnificativ asupra concentrației plasmatică a ionilor de calciu.

Rolul fiziologic al calcitoninei este de a regla procesul de resorbție osoasă, prevenind pierderile osoase excesive în situații cum ar fi creșterea rapidă, sarcină, lactație și în unele stări patologice asociate cu turnover osos crescut (boala Paget, tireotoxicoză, hiperparatiroidism).

La adult, efectul său asupra concentrației plasmatică de calciu este mai slab, din următoarele motive: 1) o reducere inițială a calcemiei cauzată de calcitonină este urmată în decurs de câteva ore de o stimulare a secreției de PTH, care contracarează efectul calcitoninei; 2) la adult, rata zilnică a resorbției/depunerii osoase este relativ mică, astfel încât acțiunea calcitoninei la acest nivel are consecințe reduse asupra calcemiei.

La copii, acest efect este mult mai marcat, deoarece remodelarea osoasă este mai accentuată (4).

Reglarea secreției de calcitonină. Eliberarea calcitoninei din celulele parafoliculare ale tiroidei este stimulată de creșterea calcemiei. Acest mecanism acționează în mod opus față de sistemul de control al calcemiei exercitat de PTH. Există două diferențe majore între

mecanismele de acțiune ale calcitoninei și PTH: 1) calcitonina acționează foarte rapid, atingând un maxim de secreție după o oră, în timp ce parathormonul necesită 3-4 ore pentru a atinge un maximum; 2) calcitonina constituie un mecanism de reglare pe termen scurt a concentrației calciului ionic, fiind contracarată de răspunsul paratiroidian mult mai puternic (fapt demonstrat de menținerea nivelului calcemiei de către PTH singur după ablația tiroidei și deci în lipsa calcitoninei) (15).

În afară de nivelul calcemiei există și alți factori care favorizează secreția calcitoninei. Astfel, hormonii gastrointestinali (gastrina), sau un peptid sintetic analog (pentagastrina), stimulează secreția de calcitonină aceasta intervenind postprandial pentru a contracara o eventuală creștere bruscă a calcemiei. Alți hormoni gastrointestinali (colecistokinina, secretina) pot favoriza secreția de calcitonină.

Administrarea de vitamină D activă ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) crește nivelul plasmatic de calcitonină. Atât calcitonina cât și forma activă a vitaminei D sunt crescute în sarcină și lactație, sugerând un rol protector al calcitoninei pentru scheletul matern față de necesitățile crescute în calciu ale fătului, respectiv ale sugarului (2).

Ultimii ani au deschis perspective noi ale fiziologiei calcitoninei. Acestea includ descoperirea receptorilor pentru calcitonină în creier, sugerând un posibil rol al acestui hormon ca neuromediator, implicat probabil în perceperea durerii.

Un alt aspect este descoperirea unui peptid, CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide - peptidul legat de gena calcitoninei), cu rol de neuromediator, care se formează în creier pornind de la același transcript primar cu al calcitoninei. O constatare interesantă este aceea că pornind de la gena calcitoninei, în celulele tiroidiene se formează calcitonina, pe când în creier, transcriptul primar suferă o cale diferită de maturare posttranscripțională, conducând la o proteină total diferită, CGRP, cu rol de neuromediator.

Se pare că și alți hormoni intervin în metabolismul calciului. S-a sugerat că hormonul de creștere ar stimula funcția paratiroidelor, în timp ce glucocorticoizii au un efect hipocalcemic, inhibând absorbția osoasă produsă de parathormon. Pe de altă parte, dozele mari de cortizon limitează formarea matricii proteice a osului și perturbă astfel osteogeneza. Formarea acestei matrice este favorizată în schimb de către hormonii sexuali androgeni și estrogeni.

7.1.3.3. VITAMINA D

Această vitamină cu structură similară colesterolului intervine în metabolismul calciului favorizând absorbția de calciu și fosfor din intestin și participă la procesele de mineralizare osoasă. Inclusă în grupul vitaminelor liposolubile, ea se prezintă sub mai multe forme, dintre care cele mai importante sunt vitamina D_2 (ergocalciferol) de origine vegetală, și vitamina D_3 (colecalfiferol) de origine animală. Vitamina D_3 se poate sintetiza și la nivelul tegumentelor din 7-dehidrocolesterol sub acțiunea radiațiilor UV.

Alimentele bogate în vitamină D_3 sunt ficatul, gălbenușul de ou și uleiul de pește.

Pentru a deveni fiziologic activă, vitamina D suferă o serie de reacții (vezi fig. 7.2). Prima etapă are loc în ficat și constă într-o hidroxilare în poziția 25 a colecalciferolului, rezultând 25 hidroxicolecalciferol (25OH D). Această etapă este autolimitantă, prin feed-back negativ, de către cantitatea de 25 OH D formată. Având în vedere sediul hepatic al acestei reacții, pacienții prezentând afecțiuni parenchimatose sau colestatice severe au adesea nivele scăzute ale $25\text{-hidroxicolecalciferolului}$. Pe de altă parte, inducerea sistemului microzomial hepatic de către barbiturice duce la creșterea metabolizării și inactivării vitaminei D, ceea ce se poate solda cu osteomalacie sau rahitism.

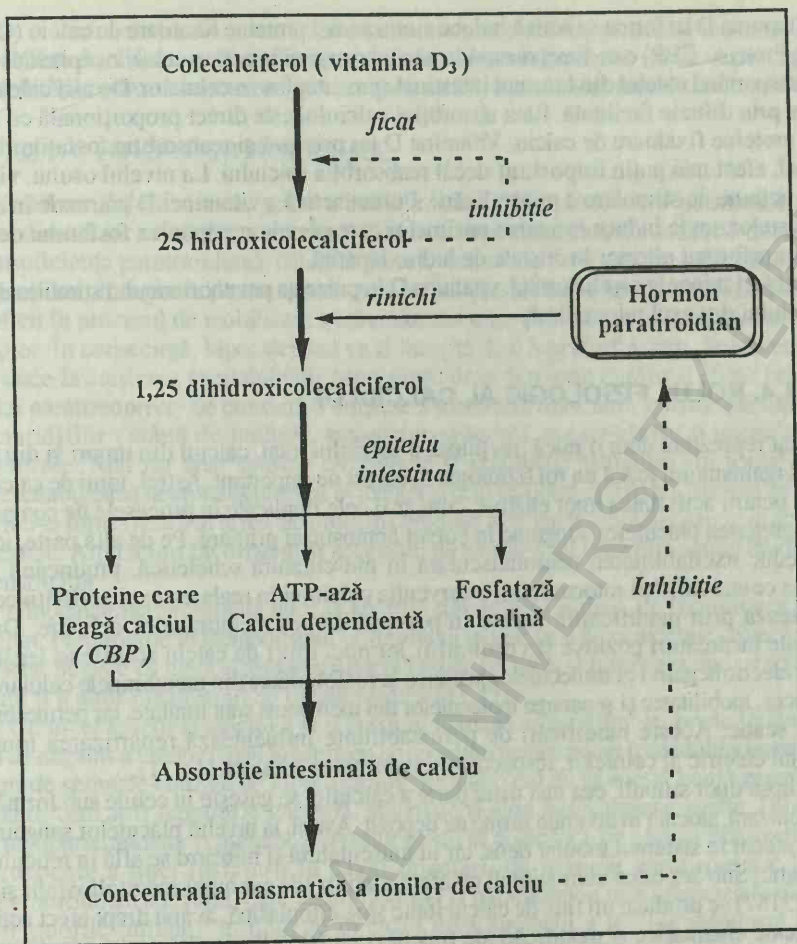


Fig. 7.2. Activarea vitaminei D3 la forma de 1,25 dihidroxicolecalciferol și rolul vitaminei D în controlul concentrației plasmatice de calciu.

Următoarea etapă în activarea vitaminei D are loc la nivel renal și constă într-o hidroxilare în poziția 1 a 25 hidroxicolecalciferolului, sub acțiunea unei 1-hidroxilaze, rezultând 1,25 dihidroxicolecalciferol ($1,25 (\text{OH})_2\text{D}$) forma cea mai activă a vitaminei D₃. Această etapă necesită prezența parathormonului. Formarea $1,25 (\text{OH})_2\text{D}$ este influențată și de nivelul calciului plasmatic (9). O creștere a calcemiei duce la diminuarea formării 1,25 dihidroxicolecalciferolului atât prin efectul direct al ionilor de calciu cât mai ales prin intermediul scăderii hormonului paratiroidian, a cărui secreție e inhibată de creșterea calcemiei. La vârstnici, capacitatea rinichiului de a converti 25 OH D în $1,25 (\text{OH})_2\text{D}$ este diminuată, determinând o absorbție redusă a calciului intestinal, respectiv o mobilizare crescută a calciului osos pentru a menține calcemia în limite normale.

Vitamina D în forma sa activă induce sinteza unei proteine fixatoare de calciu (Calcium Binding Protein - CBP) care funcționează la nivelul marginii în perie a celulelor epiteliale intestinale, transportând calciul din lumenul intestinal spre citoplasma celulelor. De aici calciul trece în sânge prin difuzie facilitată. Rata absorbției calciului este direct proporțională cu nivelul acestei proteine fixatoare de calciu. Vitamina D favorizează și reabsorbția fosfaților la nivel intestinal, efect mai puțin important decât reabsorbția calciului. La nivelul osului, vitamina D are o acțiune de stimulare a mineralizării. Forma activă a vitaminei D pătrunde în nucleul osteoblastelor, unde induce formarea enzimelor care permit precipitarea fosfatului de calciu amorf, transformat ulterior în cristale de hidroxiapatită.

Ca efect minor la nivelul osului, vitamina D în prezența parathormonului stimulează resorbția calciului din osul mineralizat.

7.1.4. ROLUL FIZIOLOGIC AL CALCIULUI

Deși reprezintă doar o mică fracțiunea a calciului total, calciul din umori și din părțile moi ale organismului joacă un rol fiziologic deosebit de important. Astfel, ionii de calciu sunt necesari pentru activitatea unor enzime, cum ar fi cele implicate în procesele de coagulare și pentru agregarea plăcuțelor sanguine în cursul hemostazei primare. Pe de altă parte, ionii de calciu reduc excitabilitatea neuromusculară în musculatura scheletică, producând însă o creștere a contractilității miocardului. Intervenția calciului în reglarea excitabilității celulare se realizează prin modificările induse în permeabilitatea membranelor celulare. Datorită dublei sale încărcături pozitive și volumului lor mic, ionii de calciu stabilesc legături cu radicalii electronegativi ai moleculelor proteice și fosfolipidice din membranele celulare. Prin acest proces, mobilitatea și separarea moleculelor din membrană sunt limitate, iar permeabilitatea celulară scade. Aceste modificări de permeabilitate influențează repartizarea ionilor și potențialul electric al celulelor, respectiv excitabilitatea acestora (14,31).

În lipsa unor stimuli, cea mai mare parte a calciului se găsește în celule sub formă inactivă, neionizată, stocată în anumite forme de depozit. Astfel, la nivelul plăcuțelor sanguine calciul este stocat în sistemul tubular dens, iar în musculatură și miocard se află în reticulul sarcoplasmatic. Sub acțiunea unor stimuli cu efect ionofor (de exemplu inozitolfosfații și ionoforul A 23187) se produce un flux de calciu ionic spre citoplasmă, având drept efect activarea unor sisteme enzimatic și modificări ale funcției celulelor. Pe de altă parte, agenții antagoniști ai calciului (verapamil, nifedipin) reduc creșterea calciului ionic din citoplasma celulelor.

7.2. PERTURBAREA METABOLISMULUI CALCIULUI

Patologia calciului implică modificări ale nivelului calcemiei și modificări ale proceselor de osteogeneză și osteoliză.

7.2.1. HIPOCALCEMIILE

În prezența unei hipocalcemii este important să se precizeze dacă scăderea calciului se realizează pe seama celui ionizat sau pe seama celui legat de proteine.

Scăderea calciului nedifuzibil (legat de proteine) însoțește orice hipoproteinemie aparentă sau reală. Scăderi ale calcemiei se pot întâlni în hiperhidratați, în sindromul

nefrotic și în denutriție. În această ultimă situație poate scădea și calciul ionic, ca urmare a unui deficit de vitamina D. Scăderea calciului legat de proteine nu se repercutează asupra excitabilității neuromusculare, având deci o semnificație clinică minoră.

7.2.1.1. HIPOPARATIROIDISMUL

Scăderea calciului ionic poate fi bănuită atunci când proteinele plasmatice prezintă valori normale iar calcemia este redusă. Cea mai importantă cauză a scăderii calciului ionic este insuficiența paratiroidiană, datorată de cele mai multe ori lezării paratiroidelor în cursul intervențiilor chirurgicale pentru tiroidectomie. În lipsa hormonului paratiroidian se produce un deficit în procesul de mobilizare a calciului din oase și în procesul de eliminare urinară a fosfaților. În consecință, hipocalcemia va fi însoțită de o hiperfosfatemie. Scăderea calciului ionic duce la creșterea excitabilității neuromusculare, fenomen exprimat clinic prin apariția tetaniei paratiroidoprice. Se constată o creștere a tonusului muscular, spasme ale musculaturii extremităților (mână de mamoș, spasm carpedal), spasm glotic și uneori convulsii generalizate. Mai rar apar spasme esofagiene și fenomene astmatice. În formele latente, hiperexcitabilitatea neuromusculară se evidențiază prin scăderea cronaxiei. Tetania latentă poate trece într-o formă acută în urma alcalinizării produse prin hiperventilație sau în urma ingestiei de alcaline. Alți factori favorizanți ai accesului de tetanie sunt infecțiile acute, traumatismele și menstruația.

Hipocalcemia prelungită duce la apariția tulburărilor trofice, cu friabilitatea părului și unghiilor. Perturbările în metabolismul cristalinului induse de o hipocalcemie cronică pot cauza cataractă. Se pare că hipocalcemia persistentă poate favoriza și instalarea unor stări depresive precum și a altor manifestări de natură psihică (17,29).

Un nivel scăzut al calciului și o creștere marcată a fosfaților se poate întâlni în cazul lipsei de răspuns a tubilor renali la acțiunea hormonului paratiroidian (pseudohipoparatiroidism). Alături de semnele cauzate de hipocalcemie, se mai constată în această boală genetică și alte anomalii, cum ar fi hipotrofie staturală, obezitate și oase metacarpene scurte. Diferențierea între hipoparatiroidism și pseudohipoparatiroidism se poate face prin testul Ellsworth-Howard de provocare a unei fosfaturii în cazul injectării de hormon paratiroidian. În caz de hipoparatiroidism adevărat, tubii renali răspund la parathormon prin creșterea fosfaturiei (de 10 ori valorile inițiale), în timp ce în cazul unei anomalii a tubilor răspunsul nu apare. Recoltările de urină se fac la 3 ore înainte și la 3 ore după injectarea de hormoni (32).

O probă de laborator mult mai fidelă constă în determinarea creșterii urinare a 3-5 AMP ciclic în urma administrării de hormon paratiroidian. Această creștere lipsește la bolnavii cu pseudohipoparatiroidism, în timp ce la normali sau la bolnavii cu deficit de parathormon valorile 3-5 AMP ciclic urinar cresc de 10-20 de ori (7).

7.2.1.2. HIPERSECREȚIA PATOLOGICĂ DE CALCITONINĂ

Apare în principal în carcinomul medular tiroidian, dar și în alte neoplazii cum ar fi melanomul, cancerul pulmonar, prostatic, uterin, pancreatic, unele leucemii. Efectul secreției excesive de calcitonină este apariția hipocalcemiei asociate cu hipofosfatemie.

Carcinomul tiroidian poate secreta și alte peptide cu efect hormonal de tip ACTH, care duc la apariția unui sindrom Cushing. Există și posibilitatea asocierii carcinomului tiroidian cu alte adenoame endocrine, mai ales cu feocromocitoamele producătoare de catecolamine, când se realizează așa numitul sindrom Sipple (22).

7.2.1.3. DEFICITUL DE VITAMINA D

Având în vedere rolul vitaminei D în economia metabolismului fosfocalcic, este de așteptat ca deficitul acestei vitamine realizat prin diferite mecanisme să determine apariția hipocalcemiei.

Rahitismul este o tulburare de mineralizare a osului în creștere. La copil, în majoritatea cazurilor boala apare datorită unui deficit de vitamina D, realizând așa-zisul rahitism carențial sau vitamino-D sensibil. Mai rar este determinat de alți factori, realizând rahitismul vitamino-D rezistent. La adult, deficitul de vitamină D determină osteomalacia.

Rahitismul carențial se produce prin:

- 1) deficit al sintezei tegumentare de vitamină D (expunere insuficientă la razele solare)
- 2) aport neadecvat de vitamină D
- 3) creșteri rapide în greutate, cu necesar crescut de vitamină D (sugari, prematuri, gemeni)
- 4) afecțiuni organice care determină o tulburare a absorbției sau a activării vitaminei D (boli digestive, hepatice, renale), caz în care se vorbește de rahitism carențial secundar.

Carența de vitamina D duce la un deficit de absorbție intestinală a calciului ceea ce determină o tendință spre hipocalcemie. Hipocalcemia declanșează un hiperparatiroidism secundar, tinzând să restabilească nivelul calciului seric pe seama mobilizării sale din oase. Alături de hipocalcemie sunt prezente hipofosfatenia și hiperfosfaturia.

În convalescență, când prin administrare de vitamină D se reia absorbția normală de calciu, hiperparatiroidismul cedează, cu normalizarea sau chiar creșterea temporară a fosfatemiei. Mineralizarea osoasă accentuată din această perioadă poate duce la scăderea marcată a calciului plasmatic, care în lipsa unei administrări exogene de calciu poate duce la tetanie.

Rahitismul vitamino-D rezistent înregistrează forme primitive, apărând în cadrul unor boli genetice, și forme secundare unor boli organice sau unor tratamente medicamentoase ce perturbă metabolismul normal al vitaminei D. În cadrul formelor primitive menționăm rahitismul hipocalcemic vitamino-D rezistent - boală autosomal recesivă datorată unui deficit al enzimei 1-hidroxilază renală, responsabilă de convertirea 25 hidroxicoalecalciferolului la 1,25 dihidroxicoalecalciferol (ale cărui valori sunt scăzute în plasmă). Deficitul genetic de fosfatază alcalină de origine osoasă se soldează de asemenea cu un rahitism rezistent la vitamina D.

Formele secundare apar în special în boli digestive în care este perturbată absorbția vitaminei D (deficit de lipază pancreatică cu steatoree, obstrucții ale căilor biliare, boli intestinale evoluând cu maldigestie și malabsorbție). În bolile hepatice (hepatite cronice, ciroze) poate apare un deficit de 25 hidroxilază hepatică, perturbându-se prima treaptă de hidroxilare a vitaminei D. La aceasta se pot adăuga tulburările de absorbție intestinală a vitaminei D, datorate eventualei colestaze asociate.

Merită semnalat comportamentul diferit al fosfatazei alcaline în funcție de mecanismul de producere a hipocalcemiilor. Astfel în hipocalcemiile consecutive unui deficit de hormon paratiroidian fosfataza alcalină este normală, pe când în deficitul primar de calciu (de exemplu în rahitism) sau în afecțiuni renale cu pierdere de calciu fosfataza alcalină este de regulă crescută. Mecanismul intim al acestui fenomen pare a fi legat de hiperparatiroidismul secundar hipocalcemiei. Acesta duce la procese de resorbție osoasă și la un răspuns compensator al osteoblastelor care secretă fosfatază alcalină. În tabelul 7.1. sunt menționate câteva criterii pentru diagnosticul hipocalcemiilor și tetaniilor.

Tabel 7.1.

Diagnosticul diferențial al hipocalcemiilor și tetaniilor (N=normal; PTH = hormon paratiroidian)

Starea patologică	Nivelul plasmatic de:					Fosfaturia provocată de PTH (test Ellsworth-Howard)	Semne de tetanie	Observații
	Ca	PO ₄	Proteine	Uree, creatinină	Fosfatază alcalină			
A. Scăderea calciului legat de proteine 1. Hiperhidratare	↓	N sau ↓	↓	N sau ↓	N sau ↓	Absente	Absente	Se normalizează după restricția lichidelor
	↓	N	↓	N sau ↓	N	Absente	Absente	Adeseori asociat cu carențe multiple. Se va căuta etiologia și patogenia carenței
B. Scăderea calciului ionizat 1. Hipoparatiroidism	↓	↑	N	N	N	Răspuns crescut	Prezente	Dozări de PTH
	↓	↑	N	N	N	Răspuns diminuat	Prezente	Anomalii foarte rare, dozări de PTH; dozări de cAMP în urină
3. Insuficiență renală	↓	N sau ↑	N sau ↓	↑	N sau ↑	Răspuns diminuat	Uneori prezente	În caz de acidoză tetania nu apare
4. Deficit de vit.D	↓	↓	N	N	↑		Uneori prezente	Tetania poate apărea la începutul terapiei cu vit.D
C. Alcaloză 1. Metabolică	N	↑ sau N	N	N	N		Prezente	pH crescut; bicarbonați crescuți
	N	N	N	N	N		Prezente	pH crescut; pCO ₂ scăzut

7.2.1.4. ALTE HIPOCALCEMII

În insuficiența renală, alături de retenția azotată există și retenție de acizi organici capabili să fixeze calciul sub formă neionizabilă, ceea ce duce la scăderea calciului ionic. S-a sugerat (9) că la instalarea hipocalcemiei contribuie și defectul de hidroxilare renală a 25-hidroxicolecalciferolului. De notat că în insuficiența renală nivelul de PTH este de regulă crescut ca urmare a scăderii calciului ionic și se bănuiește că reactivitatea scăzută a plăcuțelor sanguine la astfel de bolnavi s-ar datora creșterii acestui hormon.

În pancreatita acută lipaza eliberată din țesuturile necrozate produce lipoliză, cu generarea crescută de acizi grași. Aceștia precipită cu calciul formând săpunuri de calciu insolubile ceea ce determină scăderea calciului ionic.

7.2.2. HIPERCALCEMIILE

Creșterea calciului legat de proteine survine doar în caz de hemoconcentrație și nu are o semnificație funcțională sau clinică. Ea coincide cu o creștere a hematocritului și a concentrației proteinelor totale și se rezolvă odată cu rehidratarea pacientului.

Creșterea calciului ionizat prezintă o semnificație deosebită, deoarece ea denotă de cele mai multe ori o decalcifiere a țesutului osos, iar eliminările crescute de calciu pe cale renală pot provoca leziuni ale tubilor. Cea mai frecventă cauză de hipercalcemie este hiperparatiroidismul.

7.2.2.1. HIPERPARATIROIDISMUL

Datorită perfecționării tehnicilor de dozare radio-imunologică a hormonului paratiroidian s-au putut contura o serie de condiții patologice evoluând cu hipersecreție de hormon (14,17,33). Se disting astfel:

a. hiperparatiroidismul primar este cauzat de obicei de adenoame benigne ale paratiroidelor și rareori de carcinoame ale acestor glande. Hiperplazia difuză a paratiroidelor poate fi de asemenea o cauză de hiperparatiroidism. Secreția de parathormon în aceste cazuri este autonomă, fiind independentă de nivelul calcemiei.

b. hiperparatiroidismul secundar survine ca un răspuns al organismului la acțiunea agenților care tind să determine o scădere a calciului ionic. Asemenea situații apar în rahitism și osteomalacie, în sarcină și lactație. Paratiroidele hiperplaziate secretă mari cantități de hormon a cărui concentrație poate crește de la 0,5-1 ng/ml la valori de 15-20 ng/ml. Spre deosebire de hiperparatiroidismul primar, în cel secundar secreția de hormon este reglată de nivelul calcemiei, iar când aceasta se normalizează, hipersecreția de hormon încetează (feed-back negativ). De aceea, în hiperparatiroidismul secundar, calcemia nu este niciodată crescută. Prin hiperparatiroidismul secundar, organismul previne prăbușirea calcemiei și instalarea tetaniei, dar acesta se realizează prin spolierea calciului din oase.

c. hiperparatiroidismul terțiar reprezintă o situație în care printr-o stimulare prelungită a paratiroidelor de către o scădere persistentă a calciului ionizat se ajunge la hipertrofierea marcată a acestora și la o hipersecreție autonomă, având toate caracteristicile unui hiperparatiroidism primar.

Hipercalcemia este o complicație frecventă a bolilor maligne, survenind în special la pacienți cu mielom, cancer mamar avansat sau cancer pulmonar (2,25). Cauza principală este

legată de prezența metastazelor osoase osteolitice, acestea acționând prin activarea osteoclastelor, precum și prin efectul eroziv al celulelor tumorale. O serie de tumori produc factori ce stimulează receptorul pentru PTH. Acești factori pot fi responsabili pentru manifestările clinice ale hipercalcemiei în boli maligne, incluzând pierderea renală de fosfați, generarea crescută de ciclic-AMP și reabsorbția renală crescută de calciu.

Creșterea nivelului plasmatic de parathormon survine frecvent în insuficiența renală cronică și pare a se datora nu doar unui clearance deficitar ci și unei hipersecreții. Există indicii că excesul de parathormon ar putea contribui la explicarea unor manifestări patologice din uremie, cum ar fi anomaliiile neurologice, pruritul, necrozele osoase și hipoagregabilitatea plachetară (3).

Semnele de laborator în hiperparatiroidism constau în hipercalcemie (valori peste 5.5 mEq/l), hipofosfatemie (valori sub 0.75 mmoli/l), hipercalcuriie (peste 200 mg/24 ore) și hipersfaturie (manifestare inconstantă și nepatognomonică).

Tehnicile actuale de radioimunodozare permit determinarea nivelului de parathormon, care este crescut în hiperparatiroidism. Această dozare este extrem de utilă pentru a distinge hiperparatiroidismul de alte cauze de hipercalcemie (unde parathormonul este normal sau nedetectabil). De asemenea, ea detectează un hiperparatiroidism secundar unde hipercalcemia lipsește (14).

Creșterea fosfatazei alcaline osoase reprezintă semnul caracteristic pentru reacțiile osteoblastice compensatorii, cu mențiunea că în formele de debut ale hiperparatiroidismului primar fără afectarea exprimată a țesutului osos valorile acestei enzime sunt puțin modificate (14,29,33).

Un semn util, în special pentru evidențierea afectării scheletului, constă în creșterea eliminărilor urinare de hidroxiprolină (peste 65 mg în 24 de ore).

Măsurarea 3,5 ciclic AMP urinar arată valori crescute în hiperparatiroidism, dar și în unele neoplazii.

Manifestările clinice în hiperparatiroidism sunt legate de efectele hormonului paratiroidian asupra țesutului osos și asupra rinichilor.

a) **Leziunile osoase** sunt realizate prin proliferarea osteoclaștilor care lizează matricea de collagen și duc la resorbția sărurilor minerale din os. Acest proces antrenează o proliferare compensatorie a osteoblastelor, care duce la creșterea fosfatazei alcaline. Este important de știut că în hiperparatiroidismul primar, afectarea oaselor devine clinic manifestă doar în formele cu durată prelungită. În aceste cazuri, leziunile osoase realizează boala von Recklinghausen (osteoa fibrochistică sau osteoa fibroasă generalizată), care se manifestă clinic prin dureri osoase asociate cu deformări ale oaselor; radiologic se constată o decalcifiere generalizată, eroziuni subperiostale și formarea de chisturi în oase; histologic se observă o creștere marcată a numărului de osteoclaste. Uneori se asociază o reacție osteoblastică căreia îi corespunde în plan umoral o creștere a activității fosfatazei alcaline. Distrucțiunile osoase se însoțesc de creșterea eliminării urinare a unor polipeptide conținând hidroxiprolină, indicând degradarea collagenului din matricea organică a osului. Toate manifestările cedează spectaculos după extirparea paratiroidelor. Calciul seric scade, iar reacția osteoclastică este oprită. Evident, în astfel de situații lipsa administrării de calciu poate duce la tetanie.

În hiperparatiroidismul secundar asociat unui deficit de vitamină D (rahitism sau osteomalacie) manifestările osoase sunt diferite. Astfel, în rahitism apar deformări osoase tipice: la nivelul craniului baze frontale și/sau parietale, torace turtit lateral, stern în carenă și mătăanii costale, modificări variabile ale coloanei vertebrale, brățări radiale sau bosalări ale tibiei. Histologic predomină osteoidul necalcificat. Reacția osteoclastică este mai puțin exprimată, iar osteoblastele, totdeauna crescute, coincid cu o creștere marcată a fosfatazei alcaline, care

de cele mai multe ori depășește valorile întâlnite în hiperparatiroidismul primar. Fenomenele cedează la administrarea de calciu și vitamină D.

b) **Afectarea rinichiului** survine doar în hiperparatiroidismul primar și terțiar în care există o hipercalcemie și o hipercalciiurie persistentă. Aceste leziuni renale apar în special atunci când urina tinde să devină alcalină, ceea ce favorizează precipitarea fosfaților de calciu. Alcalinizarea urinei survine în caz de ingestie de alcaline în boala ulceroasă, consumul mare de alimente alcaline, cum este laptele sau în unele infecții urinare (de exemplu cu *Proteus*). Principalele forme clinice realizate sunt nefrolitiază și nefrocalcinosis.

În nefrolitiază predomină formarea de calculi de fosfat de calciu radioopaci. Deși numeroși pacienți cu hiperparatiroidism ajung la nefrolitiază, totuși abia 1-5% din cazurile de nefrolitiază sunt cauzate de hiperfuncția paratiroidelor. În rest, se încriminează procese osteoporotice, cauzate de imobilizări prelungite, leziuni metastatice distructive ale oaselor, infecții ale tractului urinar sau o predispoziție constituțională.

În nefrocalcinosis, depunerile de fosfat de calciu au loc chiar în parenchimul renal, afectând în timp funcția rinichilor, scleroza renală și uremia instalându-se chiar și după tratarea hiperparatiroidismului. Alterarea funcției renale duce încă din fazele inițiale la o creștere a eliminărilor de calciu care nu se mai retroabsoarbe din filtratul glomerular. De asemenea, deficitul de retroabsorbție a apei duce la o poliurie precoce. Pe de altă parte, diminuează eliminările de fosfor, tubii renali devenind incapabili să răspundă la hormonul paratiroidian. Pe măsura acumulării de uree diagnosticul de hiperparatiroidism devine mai dificil, necesitând dozarea parathormonului.

c) **Modificarea excitabilității neuromusculare** apare adeseori în hiperparatiroidismele care evoluează cu creșteri marcate ale calcemiei. Scăderea excitabilității neuromusculare în musculatura striată și netedă explică hipotonia musculară și constipația rebelă a acestor pacienți. Anorexia, greața și vomă hipercalcemicilor pot fi explicate printr-un efect central.

d) **La nivelul inimii** hipercalcemia poate provoca modificări funcționale care se evidențiază electrocardiografic. În cazul creșterii bruște a calcemiei peste 7,5 mEq/l apare riscul stopului cardiac.

7.2.2.2. ALTE HIPERCALCEMII

Intoxicația cu vitamină D. Ingestia cronică de vitamină D duce la o creștere a absorbției intestinale de calciu și probabil și la o creștere a resorbției sale osoase, provocând astfel hipercalcemie. Nivelul calciului se normalizează prin întreruperea tratamentului cu vitamină D, restricția calciului alimentar și hidratare. Depozitele de vitamină D persistă săptămâni după oprirea administrării acesteia. Uneori se impune tratamentul cu glucocorticoizi pentru a ameliora hipercalcemia persistentă sau severă, normocalcemia instalându-se în decurs de câteva zile după 100 mg de cortizon (2).

În alte cazuri există o sensibilitate exagerată a organismului la doze fiziologice de vitamină D, cum este cazul **hipercalcemiei idiopatice a sugarului** (sindromul Williams). În această situație se presupune un deficit în procesul de inactivare al vitaminei D.

În **sarcoidoză**, precum și în alte boli granulomatoase, apare o producție excesivă și nereglată de 1,25-dihidroxi-colecalciferol, care este sintetizat la nivelul macrofagelor și altor celule din granulome. Expunerea la soare sau administrarea de doze mici de vitamină D duc la creșterea metabolismului activ al vitaminei D și hipercalcemie consecutivă (2). De asemenea, într-o serie de situații asociate cu un turnover osos accelerat (hipertiroidism, imobilizare prelungită) poate apare hipercalcemie.

În **hipertiroidism** apare o creștere a resorbției osoase, probabil printr-un efect direct al tiroxinei asupra scheletului.

Imobilizarea la adulți este rareori însoțită de hipercalcemie în absența unei boli asociate. Hipercalcemia poate însă să survină în acest context la copii și adolescenți, în special după traumatismele medulare cu paraplegie sau tetraplegie. Mecanismul implică o modificare a ratei turnoverului osos în care resorbția predomină asupra mineralizării.

Administrarea de diuretice tiazidice poate cauza hipercalcemie mai ales la pacienții cu rată crescută a turnoverului osos, cum ar fi cei cu hipertiroidism sau osteoporoză juvenilă.

Hipercalcemiile ce însoțesc afecțiunile maligne ale oaselor se produc atât prin acțiunea locală distructivă, cauzată de procesul malign, cât și prin eliberarea în unele cazuri a unor peptide cu acțiune similară cu cea a hormonului paratiroidian (producere ectopică) așa cum s-a arătat mai sus.

Fosfataza alcalină este de regulă crescută în metastazele osoase ale carcinoamelor mamare, tiroidiene, ovariene și pulmonare, când se produce o reacție osteoblastică compensatorie față de distrucțiile osoase. În schimb, în mielomul multiplu, fosfataza alcalină nu este crescută (17,33).

Hipercalcemia din sindromul lapte-alkaline poate apare la pacienții suferind de ulcer gastric și duodenal (17), fiind totuși o situație mai rar întâlnită actualmente.

7.2.3. AFECȚIUNI ALE OASELOR CARE NU MODIFICĂ NIVELUL CALCEMIEI

Există și afecțiuni ale oaselor în care nivelul calciului plasmatic nu e modificat semnificativ (1,14,17,33).

Osteoporoza se caracterizează prin reducerea matricei proteice a oaselor, cu o decalificare secundară. O astfel de situație poate surveni în carența de proteine sau în caz de catabolism proteic excesiv, precum și în imobilizarea prelungită (mișcărilor și presiunea exercitată asupra țesutului osos constituind un stimul fiziologic al osteoblastelor). Osteoporoza s-a mai descris și în deficitul de estrogeni, în decursul procesului de îmbătrânire, precum și după administrarea de medicamente cum ar fi hormonii tiroidieni, glucocorticoizii, anticoagulantele, preparatele de litiu și anticonvulsivantele (2).

În osteoporoză mobilizările de calciu și fosfați din oase se pretrec treptat și nu ajung să depășească capacitatea de eliminare renală, astfel încât aceste minerale nu cresc în ser. Deoarece reacția osteoblastică lipsește sau este abia schițată și doar în mod trecător, fosfataza alcalină este normală sau ușor crescută. Aceste date de laborator permit de altfel diagnosticul diferențial față de osteomalacie. (14,17,33)

Boala lui Albright sau **displazia fibroasă a osului** este o afecțiune rară, apărută înainte de pubertate, în care apar leziuni osoase diseminate și pigmentări cutanate segmentare, iar uneori este prezentă și precocitatea sexuală la fete. Etiopatogenia bolii este neclară iar modificările umorale sunt minime.

Boala Paget (osteita deformantă) constituie o afecțiune diseminată dar nu generalizată a oaselor, caracterizată prin resorbție osoasă exagerată urmată de regenerare excesivă. Concentrația plasmatică de calciu și fosfați este în limite normale, la fel și nivelul hormonului paratiroidian, ca și eliminarea urinară de calciu. Aceste observații sugerează că eliberarea crescută de minerale care decurge din resorbția osoasă accelerată este însoțită de reutilizarea calciului și fosfaților în zonele de osteogeneză. Creșterea fosfatazei alcaline este însă deosebit de exprimată (14). Caracteristică este și eliminarea unor fragmente polipeptidice scurte, conținând hidroxiprolină, expresie a catabolismului exagerat al matricii proteice a osului (19).

Hipofosfatazia este o afecțiune genetică care se manifestă de obicei la sugari, fiind însă întâlnită și la adulți. Boala are caracter autosomal recesiv; cu toate că este foarte rară, ea are o importanță teoretică deosebită, deoarece leziunile osoase de tip rahitic rezistente la vitamina D se asociază cu o scădere pronunțată a fosfatazei alcaline și o creștere a fosfoetanolaminei în plasmă și în urină. Se presupune că mecanismul patogenetic principal ar fi un deficit în sinteza de fosfatază alcalină osoasă. Creșterea fosfoetanolaminei (care în mod normal intră în compoziția unor fosfolipide, și anume a cefalinelor) poate sugera că acest ester fosforic al etanolaminei constituie substratul fiziologic al fosfatazei alcaline în oase. Lipsa enzimei duce la acumularea de substrat, respectiv de fosfoetanolamină, care ajunge la eliminări urinare de peste 30 mg pe zi, în timp ce la normali această substanță nu este detectabilă în urină.

Apariția manifestărilor de rahitism în prezența unui nivel normal al calciului și al fosfaților serici, precum și rezistența la vitamina D a perturbărilor osoase demonstrează rolul important al fosfatazei alcaline în mineralizarea țesutului osteoid. Este de notat faptul că tratamentul cu vitamina D al bolnavilor cu hipofosfatazie nu numai că nu ameliorează manifestările osoase, dar poate duce la hipercalcemii, hipercalciiurii și nefrolitiază. Fenomenul se explică prin faptul că absorbția intestinală de calciu și fosfați sub acțiunea vitaminei D nu este urmată de depunerea lor în oase (4.17).

Perturbările reabsorbției tubulare a fosfaților, așa cum survin în unele boli cu caracter familial afectând tubii renali, se pot repercuta asupra procesului de osificare, prin carența de fosfați la care se ajunge. Acești pacienți prezintă leziuni osoase similare cu cele întâlnite în rahitism, care însă nu răspund la tratamentul cu vitamina D. Sindromul poartă numele de rahitism hipofosfatemie vitamină-D rezistent. Pe plan umoral se constată o hipofosfatemie cu calciu seric în limite normale și o creștere a fosfatazei alcaline. Când pierderile de fosfați fac parte dintr-un defect mai generalizat de reabsorbție tubulară, se realizează sindromul Toni-Debré-Fanconi, prin urină pierzându-se totodată glucoză și acizi aminați (17).

7.2.4. DIAGNOSTICUL DIFERENȚIAL AL HIPERCALCEMIILOR ȘI AL BOLILOR OSOASE

Constatarea unor leziuni osoase sau a unei hipercalcemii implică probleme dificile de diagnostic. O prezentare schematică a problemelor de diagnostic diferențial în astfel de situații este redată în tabelul 7.2. Modificările calciuriei și fosfaturiei sunt mijloace adjuvante de diagnostic diferențial, iar o exagerare a fosfaturiei asociată cu o calciurie poate indica un proces de resorbție a mineralelor din oase, cum este cazul în hiperparatiroidism. Este de menționat faptul că eliminarea urinară de calciu și fosfați este condiționată de starea funcției renale. O leziune tubulară poate interfera cu retroresorbția calciului, iar o leziune glomerulară poate reduce pierderile de calciu prin urină, chiar în prezența unei hipercalcemii. A fost descrisă și o hipercalciiurie idiopatică, fără hipercalcemie și care poate evolua cu formare de calculi. În funcție de natura enzimatică a suferinței tubilor renali se poate ajunge fie la o insuficiență eliminare a fosfaților (de exemplu în pseudohipoparatiroidism), fie la o pierdere excesivă a acestora (de exemplu în sindromul Fanconi). Insuficiența renală evoluează cu retenție de fosfați.

Au fost imaginate diferite teste de excreție a fosfaților, apreciindu-se clearance-ul fosfaților în funcție de clearance-ul creatininic, dar valoarea acestor teste pentru diagnosticul diferențial al hiperparatiroidismului este discutabilă. De altfel, eliminările urinare de fosfați depind în mare măsură de aportul alimentar.

Pentru diagnosticul diferențial al hipercalcemiilor s-a utilizat testul de supresiune prin steroizi, când după administrarea unor doze mari de hidroclortizon (3 x 40 mg/zi timp de 10

Tabel 7.2.

Diagnosticul diferențial al hipercalcemiilor și al unor boli osoase

Sursa patologică	Nivelul plasmatic de:				Test de scădere a calcemiei după cortizon	Observații
	Ca	PO ₄	Proteine	Fosfatază alcalină		
A. Creșterea calciului legat de proteine 1. Deshidratare	↑	N sau ↑	↑	N		Semne de deshidratare. Uree crescută. Se corectează prin hidratare
B. Creșterea calciului ionic 1. Hiperparatiroidism	↑	↓	N	N sau ↑	negativ	Modificări ale Ca și PO ₄ pot fi mascate de o insuficiență renală
2. Producere ectopică de hormon (procese maligne)	↑	↓	N (↑ în mielom)	N sau ↑ (N în mielom)	pozitiv	Manifestări date de tumora primitivă
3. Supradozaj vit. D	↑	variabil	N	N	pozitiv	Se poate deduce din anamneză
4. Sarcoidoză	↑	variabil	N	N	pozitiv	Rară, Asociate cu subfebrilități, splenomegalie
5. Tireotxicoză	↑	N sau ↑	N	N sau ↑	pozitiv	Doar în forme severe
6. Sindrom lapte alcaline	↑	N sau ↑	N	N sau ↑	pozitiv	Astăzi foarte rar. Se deduce din anamneză
C. Boli ale oaselor fără hipercalcemie 1. Osteoporoză	N	N	N	N		După imobilizări prelungite, carența de proteine, postmenopauză, senilitate
2. Boala Paget	N	N	N	↑		Creșteri tranzitorii ale calcemiei după imobilizări pentru fracturi osoase
3. Hipofosfatazie	N	N	N	↓↓		Defect genetic foarte rar, excreția crescută de fosfotanolamină
4. Defect de reabsorbție tubulară a fosfatilor	N	↓	N	↑		Se asociază uneori cu deficiente de reabsorbție tubulară a acizilor aminați și a glucozei

zile) se produce o scădere a calcemiei la valori normale în aproape toate cazurile de hipercalcemie cu excepția bolnavilor având hiperparatiroidism primar sau terțiar. Mecanismul intim de producere al acestui efect cortizonic acut este încă insuficient elucidat (10,33). Posibilitatea de a doza de rutină PTH a făcut ca testul de supresiune prin steroizi să fie depășit. Mai utilă este însă evidențierea unor eliminări urinare masive de C-AMP în caz de hiperparatiroidism.

În principiu, ca strategie generală de diagnostic a unei hipercalcemii, se urmărește următoarea abordare: dacă bolnavul este asimptomatic și există semne de cronicitate a hipercalcemiei, cauza acesteia este aproape sigur hiperparatiroidismul. Dacă nivelul parathormonului este crescut la radioimunodozare, puține alte investigații sunt necesare. Diagnosticul e confirmat prin revenirea la normal a calcemiei după ablația chirurgicală a adenomului paratiroidian.

Dacă pacientul nu are simptome clare ci doar un scurt istoric, se poate bănui o neoplazie ocultă. Dacă nivelul parathormonului este crescut, este vorba despre un hiperparatiroidism asimptomatic.

Dacă pacientul prezintă simptome de hipercalcemie iar nivelul parathormonului este normal, diagnosticul orientează spre o neoplazie, caz în care se impun examinări imagistice (radiografie toracică, radiografii osoase, tomografie).

În cazul pacienților asimptomatici, cu hipercalcemie cronică și nivel normal al parathormonului și la care existența unui proces malign nu poate fi evidențiată, diagnosticul se orientează spre alte afecțiuni, de exemplu sarcoidoza.

7.2.5. BAZELE BIOCHIMICE ALE TERAPIEI ÎN TULBURĂRILE METABOLISMULUI CALCIULUI

În hipocalcemia asimptomatică este suficientă de cele mai multe ori administrarea de vitamină D pe cale orală, stimulându-se astfel absorbția de calciu din intestin. Deficitul de calciu din oase poate fi remediat în caz de rahitism prin administrarea de vitamină D, iar procesul de remineralizare poate fi urmărit prin nivelul fosfatazei alcaline, care începe să scadă când reacția osteoblastică a devenit eficientă. Chiar și o scădere moderată a calciului ionic ar trebui tratată pentru prevenirea cataractei. În schimb, scăderea calciului legat de proteine nu va fi tratată.

Hipocalcemiile severe din hipoparatiroidism pot fi influențate de vitamina D și mai ales de dihidrotahisterol care a înlocuit pe plan terapeutic hormonul paratiroidian.

În caz de tetanie hipocalcemia trebuie tratată ca o urgență, administrându-se intravenos calciu.

Tratamentul hipercalcemiei. Atunci când nivelul calcemiei este sub 7,5 mEq/l (3,75 mmoli/l) terapia nu are caracter de urgență. Pe cât posibil se va aplica tratament cauzal (de exemplu ablația chirurgicală a adenomului paratiroidian).

Măsurile de corectare a hipercalcemiei includ hiperhidratarea, provocarea diurezei, administrarea orală de fosfat de sodiu, ceea ce duce la precipitarea fosfatului de calciu în intestin (se administrează 100-300 ml/zi dintr-o soluție conținând 45g $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{l}$ sau 56 g $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{l}$).

Atunci când calcemia atinge sau depășește 7,5 mEq/l se vor lua măsuri de urgență care urmăresc să prevină pericolul stopului cardiac. Se pot efectua perfuzii intravenoase cu EDTA (un agent chelator de calciu), sau perfuzii cu fosfați de sodiu și de potasiu. De notat că această terapie poate duce la precipitarea calciului la nivelul rinichiului, afectând funcția acestuia. În cazurile extreme se recurge la dializă extracorporală.

7.3. METABOLISMUL FOSFORULUI

Fosforul este un element abundent în organism. Un adult de 70 kg conține aproximativ 700 g de fosfor. Circa 80% din această cantitate este cantonată în schelet sub formă de hidroxiapatită. Restul fosfaților se găsesc în țesuturile moi și în lichidul extracelular. Fosforul este în mare parte combinat cu lipide, proteine și hidrați de carbon, participând la formarea fosfolipidelor, nucleotidelor, acizilor nucleici, a compușilor macroergici. De asemenea, fosfații constituie unul din sistemele tampon ale organismului.

Majoritatea fosforului din fluidul extracelular este anorganic, găsindu-se sub două forme: HPO_4^{2-} și H_2PO_4^- . La pH-ul fiziologic al sângelui, raportul între HPO_4^{2-} și H_2PO_4^- este de 4:1. Ținându-se cont de greutatea atomică a P și luând în considerare valențele celor două forme de fosfați, se poate calcula concentrația fosforului seric în mEq/l:

$$\text{mEq P/l} = 10 (0,8 \times 2/31) + 10 (0,2 \times 1/31) \times \text{mg P/100 ml},$$

sau după simplificări:

$$\text{mEq P/l} = 0,58 \times \text{mg P/dl}.$$

Deoarece concentrația relativă a celor două specii de fosfați variază cu pH-ul, se recomandă exprimarea fosforului seric în mg/dl sau în mmoli/l (în acest caz se înmulțește valoarea fosfaților anorganici în mg/dl cu 10 pentru a raporta la un litru și se împarte la 31, masa fosforului).

La indivizi sănătoși, fosforul seric variază în limite destul de largi: 2,5-4,7 mg/dl, respectiv 0,8-1,51 mmoli/l (16). Copiii în creștere au nivele mai crescute ale fosforului (4-7 mg/dl sau 1,3-2,25 mmoli/l).

Ingestia alimentelor cu conținut ridicat de fosfor poate să crească concentrația fosforului plasmatic, în timp ce o dietă bogată în carbohidrați poate scădea fosfatemia. La femei valoarea fosfatemiei este scăzută în cursul menstruației.

La menținerea homeostazei fosforului concură intestinul subțire, rinichiul și scheletul - care constituie un rezervor de stocare.

Fosforul este prezent practic în toate alimentele, deci în principiu carența alimentară poate fi exclusă. Aportul alimentar zilnic de fosfor trebuie să fie de 800-1000 mg pentru un adult, majoritatea provenind din lapte și produse lactate. În sarcină și lactație necesarul de fosfați crește cu 50%.

Aproximativ 2/3 din fosforul ingerat este absorbit din jejun printr-un proces activ energodependent. Absorbția intestinală a fosfaților este diminuată în caz de sindroame malabsorbtive intestinale, boli hepatice, precum și în intoxicația cu metale grele. terapia cu antiacide neresorbabile și aportul alimentar crescut de fitați. Absorbția este crescută în cazul unei diete sărace în calciu, iar vitamina D și hormonul de creștere au același efect. Acțiunea parathormonului asupra absorbției intestinale de fosfat se exercită probabil indirect, prin efectul său asupra vitaminei D. Fosfatul neabsorbit din intestin se elimină prin materiile fecale.

Fosfatul este o substanță cu prag: astfel atunci când concentrația sa plasmatică este în mod constant sub 1 mmol/l, acesta nu se elimină prin urină decât în caz de perturbare patologică a reabsorbției tubulare. Peste această concentrație rata excreției de fosfat este proporțională cu creșterea valorii plasmatică (15). În general, 80-95% din fosfatul filtrat la nivelul glomerulilor este reabsorbit, iar hormonul paratiroidian stimulează eliminarea renală a fosfaților, reducând reabsorbția lor. La normali, fosfaturia oscilează între 0,9-1,3g/24 ore (29-42 mmoli/zi) fiind mult influențată de conținutul în fosfați al alimentației.

Creșterea fosfaturiei se constată în hiperparatiroidism, deficit de vitamină D, acidoză tubulară renală, sindrom Fanconi, precum și după diuretice.

Scăderea fosfaturiei survine în hipoparatiroidism, pseudohipoparatiroidism și în intoxicația cu vitamină D.

Hipofosfatemia, adică scăderea fosfaților serici sub 0,8 mmoli/l. poate surveni în hiperparatiroidism, rahitism, sindrom Fanconi precum și în cazul administrării parenterale de lichide lipsite de fosfați și în special în urma perfuzării intravenoase de mari cantități de glucoză.

Terapia comei diabetice, în care alături de glucoză și bicarbonați se administrează și insulină, creează condiții propice instalării hipofosfatemiei. În aceste situații se produce pe de o parte pierderea urinară a fosfaților, iar pe de o altă parte are loc o deplasare bruscă a acestora și a glucozei din lichidul extracelular spre lichidul intracelular, unde contribuie la formarea glucozo-6 fosfatului.

Depleția de fosfați poate surveni și în cazul vărsăturilor cronice, după aspirații gastrice prelungite sau după tratament de durată cu preparate antiacide care fixează fosfații din intestin sub o formă neresorbabilă.

Alcoolismul acut și cronic precum și terapia de durată cu diuretice se pot însoți de asemenea de o spoliere a fosfaților din organism.

O scădere a fosfaților serici este deseori întâlnită în cursul bolilor cronice cașectizante, în stări de denutriție gravă (28) și, în mod surprinzător, la obezi (20). În această ultimă situație se poate presupune că hiperinsulinismul caracteristic obezității favorizează deplasarea rapidă a glucozei și fosfaților din plasmă în lichidul intracelular și în special în celele adipose hipertrofiate, fiind vorba mai degrabă de o modificare a repartizării fosfaților decât de o depleție efectivă în fosfați. Perturbările digestive (insuficiență pancreatică, boala Crohn, fistule intestinale, colestaza) conducând la malabsorbția calciului și a vitaminei D determină o hipersecreție de parathormon care antrenează pierderi renale de fosfați.

Deficitul sever de fosfați se traduce pe plan clinic prin astenie musculară, parestezii, hiporeflexie, tremor, ataxie. În unele cazuri, suferința celulelor musculare, sărăcite în compuși macroergici poate ajunge până la liza miofibrilelor, cu creșterea consecutivă în ser a CPK (28).

O consecință importantă a deficitului de fosfați este perturbarea funcționalității elementelor figurate sanguine. Astfel, se remarcă o scădere a chemotaxiei și a capacității fagocitare a polimorfonuclearelor, ceea ce predispune la apariția infecțiilor. Retractiva cheagului este deficitară, iar plăcuțele sanguine au o durată de viață scăzută. Hematiile prezintă o fragilitate crescută, apărând o tendință la anemie hemolitică. Scăderea fosfaților din eritrocite duce la o diminuare a formării de 2,3 difosfoglicerat, cu deplasarea la stânga a curbei de disociere a hemoglobinei, respectiv perturbarea eliberării oxigenului fixat pe hemoglobină. În acest mod se ajunge la o hipoxie tisulară în prezența unei saturații în oxigen relativ bune a sângelui. Este evident că o astfel de anomalie afectează mult starea pacienților cu suferințe cardiace sau pulmonare sau care prezintă anemie (28).

Terapia hipofosfatemiilor constă în administrarea fracționată pe cale orală a unui sirop cu conținut de fosfați, echivalând cu 1 g de fosfor. De menționat că un litru de lapte conține aproximativ 1 g de fosfor. În cazul alimentației parenterale se va administra intravenos 20-25 mEq fosfat monopotasice pentru fiecare 1000 kilocalorii furnizate de substanțele nutritive primite parenteral (34).

Hiperfosfatemia survine în hipoparatiroidism, hipervitaminoză D, sarcoidoză și insuficiență renală (vezi tabelul 7.1).

7.4. METABOLISMUL MAGNEZIULUI

Un adult de 70 kg conține aproximativ 24 g de magneziu (24). Magneziul este distribuit inegal în organism, având o concentrație mai mare în țesuturile cu activitate metabolică mai intensă, cum ar fi creierul, inima, ficatul, rinichii, tiroida. Aproximativ 60% din magneziul total este cantonat în schelet, o treime din acesta fiind apt de a se mobiliza și funcționând ca un rezervor pentru menținerea magnezieniei în condiții de aport redus sau utilizare crescută: 35% din magneziu se găsește în mușchii scheletici și miocard. Aproximativ 1% din magneziul total se găsește în compartimentul extracelular - din care circa 35% este legat de albumine, restul fiind sub formă ionizantă.

Concentrația magneziului seric este de 1,92-2,3 mg/dl (24), respectiv 0,8-0,94 mmol/l sau 1,6-1,9 mEq/l.

7.4.1. DATE PRIVIND FIZIOLOGIA MAGNEZIULUI

Principalele organe implicate în metabolismul magneziului sunt intestinul și rinichii. O mică cantitate de magneziu participă la procesele de remaniere osoasă (depunere/resorbție).

Cantitatea de magneziu ingerată zilnic este de 200-350 mg și provine în special din verdețuri, pește, carne. La copii, necesarul de magneziu este de 10-20 mg/kg/zi (24,26). Se recomandă un aport suplimentar de magneziu la gravide, precum și la vârstnici - caz în care absorbția intestinală este redusă și eliminarea renală crescută.

Aproximativ 30-50% din magneziul ingerat este absorbit la nivelul intestinului prin mecanism de absorbție facilitată și pasivă. Vitamina D și forma ei activă (1,25 dihidrocolecalciferolul) cresc absorbția magneziului, dar într-un grad mai mic decât pe cea a calciului (26). În cazul unei diete conținând multe fibre, fițiți și grăsimi saturate, absorbția este mult diminuată (32). De notat că alcoolul crește eliminările urinare de magneziu.

Absorbția magneziului este deficitară în diaree, steatoree, rezecții intestinale, enteropatie de iradiere și diabet. Flora intestinală influențează negativ absorbția de magneziu.

O verigă importantă în reglarea magneziului este situată la nivel renal (vezi fig. 7.3). În condiții normale rinichiul filtrează circa 2,5 g magneziu, din care reabsoarbe 95%, excretând 100 mg pe zi. În condițiile depriverii de magneziu, rinichiul tinde să-l conserve, excreția sa scăzând la 12 mg pe zi. Deși metabolismul magneziului este strict controlat, nu s-a descris încă un hormon sau factor specific care să regleze homeostazia acestui cation. Totuși, mai mulți hormoni intervin în menținerea magneziului, influențând fie absorbția acestui cation, fie, mai ales, intervenind în controlul eliminării la nivel renal. Parathormonul (PTH) facilitează absorbția intestinală și crește reabsorbția tubulară de magneziu. În cazul hipercalcemiei, inhibiția secreției de PTH duce la creșterea magneziuriei. În hipertiroidism magneziemia este scăzută pe când în hipotiroidism ea tinde să crească, datorită diminuării eliminărilor urinare. Glucocorticoizii antrenează creșterea eliminării renale de calciu și magneziu, pe seama mobilizării rezervelor osoase. Aldosteronul intervine de asemenea în reglarea magneziului: s-a semnalat o interrelație între metabolismul magneziului și cel al potasiului, iar hiperpaldosteronismul duce la scăderea ambilor cationi. Totodată, deficitul de magneziu reduce capacitatea celulelor de a menține un gradient de potasiu, ceea ce duce la o depleție celulară de potasiu (24). Acest efect este similar cu ceea ce se întâmplă în cursul tratamentului digitalic și explică de ce deficitul de magneziu crește toxicitatea digitalicelor. Pe de altă parte, rinichiul nu poate conserva potasiul când există un deficit de magneziu, ceea ce conduce la hipokaliemie. În reglarea magneziului un rol important îl joacă și sistemul adrenergic. Deficitul de magneziu se însoțește

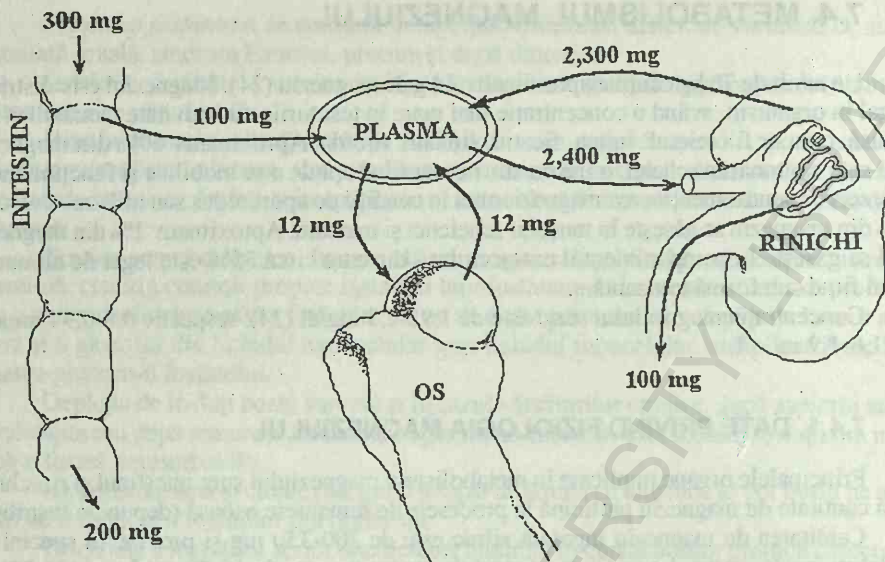


Fig. 7.3. Metabolismul magneziului. Aproximativ 40% din magneziul ingerat este absorbit; rinichiul filtrează 2,5 g, excretând 100 mg/zi pentru a menține balanța. O mică cantitate de magneziu este folosită de către os participând la sinteza și resorbția osoasă.

Tabel 7.3.

A. Substrate enzimatic (ATP Mg, GTP Mg)

1. Kinaze (hexokinază, creatinkinază, proteinkinază)
2. ATPază sau GTPază (Na, K, ATPază, CA ATPază)
3. Ciclaze (adenilat ciclază, guanilat ciclază)

B. Activare directă a enzimelor

1. Fosfofructokinază
2. Creatinkinază
3. 5-Fosforibozil pirofosfat sintetază
4. Adenilat ciclază
5. Na, K, ATPază

C. Influența asupra proprietăților membranare

1. Conducerea influxului nervos
2. Modularea canalelor de calciu
3. Transport ionic

Rolul fiziologic al magneziului. Magneziul are rol cheie în numeroase funcții mediate enzimatic. Magneziul este implicat în formarea substratelor enzimatic precum și în activarea directă a enzimelor. Funcțiile membranare care sunt influențate de magneziu includ conducerea impulsului nervos și modularea activității canalelor de calciu.

de hiperproducție de adrenalină, iar excesul de catecolamine accentuează la rândul său acest deficit.

Magneziul este implicat într-o gamă largă de reacții biochimice, având rol activator direct asupra unor enzime cum ar fi fosfofructokinaza, creatinkinaza, adenilatciclaza. El intervine în sinteza, transportul și utilizarea compușilor macroergici, în special a adenozintrifosfatului (ATP). În mitocondrii magneziul asigură cuplarea fosforilării cu oxidarea în producerea de ATP. Magneziul participă la sinteza de acizi nucleici și în sintezele proteice, intervenind în procesul de activare a acizilor aminați, respectiv de formare a complexelor aminoacid-AMP care se fixează pe acidul ribonucleic de transfer.

Magneziul are un rol stabilizator asupra membranei celulare precum și asupra ribozomilor și lizozomilor, în deficitul de magneziu degranularea mastocitelor și bazofilelor fiind accentuată (31).

Este cunoscută importanța magneziului pentru reglarea contracției musculare și conducerea influxului nervos.

Prin efectul său asupra membranei celulare, magneziul intervine în transferul ionic (în special al potasiului) și modulează activitatea canalelor de calciu.

Rolul fiziologic al magneziului este prezentat schematic în tabelul 7.3.

7.4.2. MODIFICĂRILE PATOLOGICE ALE METABOLISMULUI MAGNEZIULUI

În practica medicală deficitul de magneziu este întâlnit relativ frecvent. Cu toate acestea, el nu este întotdeauna identificat pe de o parte deoarece are o expresie clinică mai puțin specifică comparativ cu carența altor elemente (cum ar fi fierul), iar pe de altă parte pentru că deficitul de magneziu apare de obicei într-un context clinic complex în asociere cu alte afecțiuni care pot domina tabloul clinic. În principiu, deficitul de magneziu poate apare ca urmare a unui aport insuficient sau a unor pierderi excesive, sau prin combinarea celor două mecanisme.

Aportul deficitar se constată mai ales în cazul alimentației parenterale, situație în care intervine și creșterea eliminărilor urinare, determinată de administrarea soluțiilor glucozate. Curele de slăbire drastice sunt în general însoțite de instalarea unei hipomagneziemii.

Alcoolismul cronic se asociază frecvent cu carența de magneziu. La aceasta contribuie rația alimentară dezechilibrată, cu conținut scăzut de magneziu, eliminarea crescută a magneziului prin urină (etanolul antrenând o diureză osmotică) și pierderea sa prin vărsături, hiper-sudorație (fazele avansate de delirium tremens sau sevraj) (21,28,32). De asemenea malabsorbția și carența de vitamina B₆, care contribuie la menținerea nivelului intracelular de magneziu, constituie factori adjuvanți ai hipomagneziemiei la alcoolici. În etilism, deficitul de magneziu intervine în apariția tulburărilor neuromusculare și posibil în instalarea fenomenului de dependență.

În afecțiunile evoluând cu malabsorbție (resecții intestinale, enteropatii acute sau cronice, diaree, steatoree) apare un deficit de magneziu care la rândul său poate agrava manifestările clinice ale carenței unor vitamine (B₁, B₆, B₁₂ și acid folic), strâns legate de metabolismul magneziului.

În hiperaldosteronismul primar sau cel secundar (28,35) al bolnavilor cu insuficiență cardiacă alături de instalarea unei hipokaliemii apare și hipomagnezie mie.

Terapia cu diuretice (în special tiazidice) provoacă o depleție de magneziu. Astfel, la pacienții cu insuficiență cardiacă prezentând hiperaldosteronism secundar și tratați cu

diuretice, hipokaliemia și hipomagneziemia care se instalează pot explica apariția aritmiilor și a manifestărilor toxice digitale (35).

Deficitul de magneziu survine relativ frecvent în practica pediatrică (23,24). Apariția deficitului de magneziu în prima copilărie se datorează următoarelor particularități ale acestei vârste:

1) disgravidia poate duce la o sărăcire în magneziu a organismului matern cu repercusiuni asupra capitalului de magneziu al nou-născutului;

2) creșterea rapidă a copilului în primele luni de la naștere, respectiv sinteza accelerată de proteine caracteristică acestei perioade, implică necesități sporite de magneziu, cation ce intervine în reglarea sintezei proteice;

3) laptele este sărac în magneziu;

4) tulburările gastrointestinale relativ frecvente la această vârstă pot precipita o hipomagnezie mică, mai ales dacă se administrează copilului perfuzii cu lichide lipsite de magneziu;

5) terapia cu calciu și vitamina D în doze mari favorizează pierderile urinare de magneziu.

Este interesant de notat faptul că după ablația chirurgicală a unui adenom paratiroidian se dezvoltă adesea fenomene de tetanie care nu cedează la calciu dar sunt bine influențate la administrarea de magneziu. Se bănuiește că în astfel de cazuri hiperparatiroidismul de durată a produs o depleție a rezervelor de magneziu, care s-au mobilizat din oase sub acțiunea parathormonului, împreună cu calciul și fosfații fiind apoi eliminat prin urină. Este posibil ca în hiperparatiroidismul secundar, care survine în rahitism, să se producă același fenomen de sărăcire în magneziu.

Încetarea bruscă a hiperparatiroidismului secundar, ca urmare a administrării de vitamină D, poate să favorizeze apariția tetaniei și prin intermediul deficitului de magneziu instalat între timp. Se pare că manifestările de tetanie din deficitul de magneziu sunt și ele favorizate de alcaloză.

În diabetul zaharat apare o hipomagnezie mică datorită pierderilor urinare de magneziu antrenate de diureza osmotică. Hipomagneziemia este deci și un indicator al controlului deficitar al glicemiei la pacienții diabetici, nivelul scăzut al magneziului corelându-se cu nivelul crescut de hemoglobină glicozilată (26).

Stresul psihic și/sau fizic crește necesarul de magneziu și poate accentua pierderile de magneziu celular. Între cele două fenomene există o condiționare reciprocă: astfel, hipomagneziemia crește sinteza de catecolamine, care la rândul său determină mobilizarea magneziului celular, în special din miocard (27).

Sunt interesante pentru practica clinică o serie de observații care stabilesc relații între deficitul de magneziu și ateroscleroză. Studii experimentale au demonstrat apariția leziunilor histologice la nivelul arterelor mijlocii și mici la animalele a căror dietă conținea cantități scăzute de magneziu. În condițiile asocierii excesului de grăsimi saturate se constată apariția leziunilor aterosclerotice, a căror intensitate este mai mare decât a celor apărute în prezența unui aport adecvat de magneziu (32).

O serie de studii citate de Zeană în monografia sa (32) arată că, prin rolul său stabilizator asupra membranelor fosfolipidice, magneziul ar conferi o anumită protecție celulelor endoteliale față de stresul hemodinamic. De asemenea deficitul de magneziu ar produce o încetinire a captării și internalizării particulelor de LDL de către receptorii celulelor hepatice.

Au fost descrise cazuri de hipomagnezie mică evoluând cu hiperexcitabilitate neuromusculară și boală tromboembolică (11). De fapt magneziul intervine în dezagregarea plăcuțelor sanguine, dar nu există suficiente argumente pentru stabilirea unei legături între deficitul de magneziu și tromboze.

Manifestările clinice ale deficitului de magneziu sunt extrem de polimorfe și relativ nespecifice. Alături de simptome generale, cum ar fi insomnia, anxietatea, depresia, cefaleea, bolnavii prezintă slăbiciune musculară, crampe, paretezii, hiperreflexie, dificultăți la înghițire, senzație de constricție toracică, tulburări de adaptare a vederii. Pot apare și alte manifestări: palpitații, constipație, dismenoree, tulburări trofice ale fanerelor.

Recunoașterea deficitului de magneziu este îngreunată de faptul că nivelul magneziului seric nu reflectă în mod fidel capitalul de magneziu al organismului. Evidențierea unei concentrații mult scăzute a magneziului seric confirmă diagnosticul, dar un nivel normal al acestui cation nu exclude cu certitudine deficitul de magneziu. Măsurarea magneziului muscular este dificilă și nu aduce un aport diagnostic mult mai substanțial. Se discută valoarea determinării magneziului eritrocitar, care în mod normal este de 4-6 mEq/l (2-3 moli/l), scăzând în multe cazuri cu deficit sever de magneziu până la valori sub 2,5 mEq/l (1,25 mmoli/l).

Deoarece conținutul în magneziu al organismului este în mare parte reglat de controlul la nivel renal al excreției, scăderea magneziuriei sub valorile de 25 mg/24 ore (2.1 mEq) la un adult sau sub 1 mg/kg corp/24 de ore la sugari și copii, denotă un răspuns compensator al rinichiului la deficitul de magneziu. S-au imaginat pe această bază teste de magneziurie provocată, arătându-se că, în mod normal, dintr-o doză intravenoasă de 6 mg de Mg pe kg corp, mai mult de 80% se elimină prin urină în 24 de ore, în timp ce în deficitul de magneziu există o tendință de retenție a acestuia și de reducere a eliminărilor urinare (35).

Diagnosticul deficitului de magneziu este completat de explorări electrofiziologice, cum ar fi electromiograma, electronistagmograma și electroencefalograma, care indică de regulă o stare de hiperexcitabilitate (23).

Amendarea spectaculară a manifestărilor clinice și electrice după administrarea sărurilor de magneziu constituie un alt argument pentru diagnosticul deficitului de magneziu (32). De menționat că administrarea de calciu agravează manifestările clinice din hipomagneziemie (28,35).

Deficitul de magneziu necesită tratament de durată cu preparate orale de magneziu (3 x 1 g lactat de Mg). În formele mai severe, un efect benefic îl are asocierea vitaminei B₆ care favorizează creșterea concentrației intracelulare de magneziu (32).

La bolnavii în stare critică se recomandă administrarea intravenoasă lentă a 2-4 g MgSO₄ în soluție glucozată. La sugari și copii se administrează MgSO₄ 20% în doză de 0.4 ml/kg corp pe zi.

De o deosebită importanță teoretică și practică este observația că, în unele denutriții grave ale copiilor, refacerea metabolismului proteic este net accelerată dacă se administrează și săruri de magneziu (21).

O contraindicație a administrării de magneziu o constituie miastenia gravis, unde există riscul paraliziei mușchilor respiratori.

Supraîncărcarea cu magneziu poate surveni la nou-născuți ai căror mame au fost tratate cu sulfat de magneziu în contextul eclampsiei, și în insuficiența renală unde este perturbată eliminarea urinară de magneziu.

Simptomele hipermagneziemiei sunt: hipotensiune, grețuri, vărsături, bradicardie, hiporeflexie osteotendinoasă, hipotonie musculară, culminând cu paralizia mușchilor respiratori.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Albright F. and Reifenstein H. Cr. Jr. The parathyroid glands and metabolic bone disease. Ed. Williams and E. Wilkins Comp., Baltimore, 1950.
2. Avioli L. V., Krone S. M. Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders, in W. B. Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1980.
3. Avram M. M., Feinfeld D. D., Huatuco A. H. Search for the uremic toxin. Decreased motor nerve velocity and elevated parathyroid hormone in uremia, the New Engl. J. Med., 1978, 298: 1000-1003.
4. Barter F. C. Hypophosphatasia, in Stanbury J. B., Wyngaarden J. and Friedrickson D. S., The Metabolic Basis of Inherited Disease, Ed. McGraw-Hill, New York, 1972.
5. Brannon P. G., Vergue Marini P., Pak C. Y. K., Hull A. R., Fordtran J. S. Magnesium absorption in the human small intestine; results in normal subjects, patients with chronic disease and patients with absorptive hypercalciuria. J. Clin. Invest., 1976, 57: 1412-1418.
6. Chase L. R., Auerbach G. D. Parathyroid function and the renal excretion of 3-5 adenylic acid. Proc. Nat. Acad. Sci. Usa, 1967, 58: 518-525.
7. Chase L. R., Melison G. L., Auerbach G. D. Pseudohypoparathyroidism: defective excretion of 3'-5' AMP in response to parathyroid hormone, J. Clin. Invest., 1969, 48, 1832-1844.
8. Cooper C. W., Schwwsinger W. H., Mahgoub A. M., Ontjes D. A. Thyrocalcitonin; stimulation of secretion by pentagastrin, Science, 1971, 172: 1238-1240.
9. De Luca H. F. The metabolism physiology and function of vitamin D. In Kumar R (ed), Vitamin D. Basic and Clinical Aspects, Boston, The Hague, Nijhoff, 1984.
10. Dent C. E., Watson L. The hydrocortison test in primary and tertiary hyperparathyroidism, Lancet, 1968, 2: 662-664.
11. Dupont B., Pony J. C., Bihan G. le, Leborgne P. Maladie Phlebothrombosante et Magnesium, Sem. Hop. Paris, 1969, 48: 3048-3054.
12. Fourman P., Royer P. Calcium Metabolism and the Bone, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1968.
13. Gozariu L., Florescu O. Calcitonic and glucose uptake by isolated rat diafragm, Horm. Metab. Res., 1973, 5: 145.
14. Gozariu L., Dascălu Rodica Calciul în organismul uman, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1975.
15. Guyton J. F. Textbook of Medical Physiology, in W. B. Saunders Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1991.
16. Henry J. B. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, in W. B. Saunders Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1991.
17. Hoffman W. S. The Biochemistry of Clinical Medicine, Year Book Medical Publisher Inc. Chicago, 1970.
18. Klein L., Curtiss P. H. Urinary hydroxyproline as an index of bone metabolism, in Pearson H. O., Joplin G. F., Dinamic Studies of metabolic Bone Disease, ed. Blackwell, Oxford, 1964.
19. Krane S. M., Munioz A. J., Harris E. D. Jr. Collagen-like fragments; Excretion in urine of patients with Paget's disease of bone. Science, 1967, 157: 713-716.
20. Lindgarde F., Trelle E. Serum inorganic phosphate in middle-aged men. Inverse relation to body weight, Acta Med. Scand., 1977, 202: 307-311.
21. Livingston D. M., Wacker W. E. C. Le role du magnesium en physiologie neuromusculaire, in Metabolisme de l'eau et des électrolytes, Triangle, 1971, 10: 169-172.
22. Mannelli M. Diagnostic problems in pheochromocytoma, J. Clin. Invest., 1989, 12: 739-757.
23. Miu N. Magneziul în patologia copilului. Teză de doctorat UMF Cluj-Napoca, 1973.
24. Miu N., Mărgineanu O., Martinecz V. Tratatamentul cu magneziu în unele sindroame produse prin deficit de magneziu. Viața Medicală, 1972, 19: 657-658.
25. Mundy G. R. The hypercalcemia of malignancy revisited. J. Clin. Invest., 1988, 82: 1-6.
26. Rude R. Physiology of magnesium metabolism and the important role of magnesium in potassium deficiency, Am. J. Cardiol. 1989, 83: 31-34.

27. Seeling M. Cardiovascular consequences of magnesium deficiency and loss. Pathogenesis, prevalence and manifestations; magnesium and chloride loss in refractory potassium repletion. Am.J.Cardiol., 1989, 83: 4-19.
28. Studer H. Wenig beobachtete Ionen: Magnesium und Phosphor, Schweiz.med.Wschr., 1978, 108: 434-437.
29. Sunderman F.W., Sunderman F.W., Jr. Evaluation of Thyroid and Parathyroid Function. Ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Montreal, 1963.
30. Wasserman R.H., Taylor A.N. Vitamin D induced calcium binding protein in chick intestinal mucosa, Science, 1966, 152, 791.
31. Winegard S. Calcium and striated muscle, in Colmar C.L., Bronner T., Mineral Metabolism, Ed. Academic Press, New York, 1969.
32. Zeană C. Magneziul - biologie, clinică, tratament. Ed. Enciclopedică, București, 1994.
33. Silva J.F., Pannal P.R. Clinical Chemistry in diagnosis and Treatment, Lloyd-Luke Medical Booke, London, 1972.
34. *** Hypophosphatemia-Leading article, Lancet, 1977, II, 122-123.
35. *** Magnesium deficiency - Leading article, Lancet, 1976, I, 523-534.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Secreția de hormon paratiroidian este stimulată de:
 - A. Scăderea calcemiei
 - B. Scăderea fosfaților serici
 - C. Ambele procese
 - D. Nici unul.
2. Creșterea fosfatazei alcaline în ser sugerează:
 - A. O hiperexcitabilitate neuromusculară
 - B. Un deficit al matricii proteice a osului
 - C. O reacție osteoblastică
 - D. O afecțiune a măduvei osoase.
3. Calcitonina este:
 - A. Un hormon care scade nivelul calcemiei
 - B. O enzimă care scindează esterii organici ai acidului fosforic
 - C. Un complex fosfocalcic ce se depune în oase
 - D. O proteină care favorizează transportul calciului prin mucoasa intestinală.
4. Stabiliți corespondența între modificările umorale de mai jos și starea patologică pe care le sugerează:

A. Calciu seric 10 mg/dl (5 mEq/l) fosfați serici 4 mg/dl (1,29 mmol/l)	I. Hipoparatiroidism
B. Calciu seric 6 mg/dl (3mEq/l) fosfați serici 8 mg/dl (2,58 mmol/l)	II. Normal
C. Calciu seric 14 mg/dl (7 mEq/l) fosfați serici 2 mg/dl (0,65 mmol/l)	III. Hiperparatiroidism primar sau terțiar
D. Calciu seric 8,5 mg/dl (4,25 mEq/l) fosfați serici 2,6 mg/dl (0,84 mmol/l) (în cazul unui copil de 2 ani)	IV. Deficit de vitamina D (rahitism)

5. Modificările calcemiei și fosfatemiei din hiperparatiroidismul primar pot fi mascate de:

- A. Fracturi osoase
- B. Insuficiență renală
- C. Ambele procese
- D. Nici unul

6. Pericolul major în caz de hipercalcemie peste 15 mg/dl este:

- A. Oprirea inimii
- B. Insuficiență renală
- C. Hipotonia musculaturii intestinale

7. În hiperparatiroidismul secundar se întâlnește frecvent:

- A. O creștere a calcemiei
- B. O creștere exprimată a fosfatazei alcaline
- C. Ambele modificări
- D. Nici una

8. Stabiliți corespondența între următoarele semne de laborator și stările patologice în care pot fi constatate:

- | | |
|--|---------------------|
| A. Eliminare urinară crescută de fosfoetanolamină | I. Sindrom Fancóni |
| B. Eliminare urinară de fragmente peptidice conținând hidroxiprolină | II. Boala Paget |
| C. Pierdere urinară de fosfați, acizi aminați și glucoză | III. Hipofosfatazie |
| D. Nivel crescut de calcitonină și catecolamine | IV. Sindrom Sipple |

9. Scăderea fosfaților serici poate fi întâlnită în:

- A. Rahitism
- B. Boli cronice cașectizante
- C. Alimentație parenterală cu soluții glucozate
- D. Hipertiroidism.

10. Scăderea magneziului seric poate apare în:

- A. Diarei cronice
- B. Hiperaldosteronism primar
- C. Toate aceste situații
- D. Nici una.

11. În hiperparatiroidismul primar sau terțiar se constată hipercalcemie și hipofosfatemie deoarece hormonul paratiroidian (PTH) stimulează eliberarea de calciu și fosfați din oase, facilitând totodată eliminările urinare de fosfați.

12. Hipocalcemia determină o hiperexcitabilitate neuromusculară deoarece vitamina D activă (1,25 dihidroxicolecalciferol) favorizează absorbția de calciu și de fosfați din intestin.

13. Calcitonina previne o creștere postprandială excesivă a calcemiei deoarece acest hormon stimulează activitatea osteoclastelor.

14. În deficitul sever de fosfați, oxigenul nu se mai fixează pe hemoglobină deoarece în hipoparatiroidism scad eliminările urinare de fosfați.

15. În alcoolismul cronic se constată o hipermagneziemie deoarece alcoolul reduce eliminările urinare de magneziu.

16. În rahitism se constată o creștere importantă a fosfatazei alcaline deoarece această enzimă determină o eliberare de calciu și de fosfați din oase.

Cheia întrebărilor 11-16:

- a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
- b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
- c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
- d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
- e. ambele afirmații incorecte

8. ANOMALIILE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Reacțiile enzimactice și implicit procesele biologice depind în mare măsură de concentrația ionilor de hidrogen (H^+) din mediu. De fapt, viața este posibilă doar între anumite limite ale acestor concentrații cuprinse între $2 \cdot 10^{-8}$ molar ($pH=7.7$) și $1 \cdot 10^{-7}$ molar ($pH=7.0$), iar valori situate între $pH\ 7.35$ și $pH\ 7.45$ sunt considerate ca fiind în limite fiziologice în cazul lichidelor extracelulare (1,5,6). Menținerea între aceste limite a concentrației ionilor de hidrogen necesită mecanisme homeostatice deosebit de eficiente. Pentru a exemplifica este suficient de a arăta că în urma proceselor metabolice din organism se produc zilnic 50-100 mmoli de H^+ care trec în cei 15-20 litri de lichid extracelular, iar concentrația normală a acestor ioni în fluidele extracelulare este de abia 40 nmoli/l ($4 \cdot 10^{-8}$ molar, respectiv $pH\ 7.4$).

8.1. MECANISME IMPLICATE ÎN HOMEOSTAZIA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Pentru a înțelege mecanismele prin care se poate ajunge la perturbarea echilibrului acido-bazic este important de a cunoaște procesele fiziologice care generează H^+ și evident procesele prin care acești ioni sunt îndepărtați din organism.

A. Procese fiziologice care generează H^+

a. Catabolismul incomplet al substanțelor conținând C, O și H.

În timp ce prin catabolizarea aerobică completă a acestor substanțe se ajunge la CO_2 și H_2O , metabolismul anaerob al hidraților de carbon implică formarea de acid lactic, iar metabolizarea incompletă a acizilor grași și a acizilor aminați cetogeni duce la formarea de corpi cetonici. La un subiect normal, efortul fizic produce acid lactic, iar flămânzirea crește cetogeneza. Așa cum se va arăta ulterior, ambele aceste procese vor fi mult accentuate în stări patologice.

b. Catabolismul complet al compușilor organici care conțin și alți constituenți în afară de C, O și H. Acest aspect se referă la transformarea grupărilor amino în uree și a grupărilor SH în sulfat. De fapt o dietă bogată în proteine și mai ales în cele care conțin un procent ridicat de aminoacizi sulfurați duce la eliminarea unei urine acide.

B. Mecanisme care reduc concentrația de H^+ în lichidul extracelular

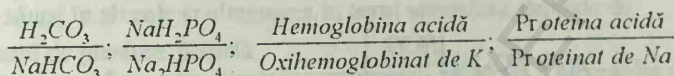
Se recunosc:

- mecanisme fizico-chimice, reprezentate de sistemele tampon;
- mecanisme biologice care implică intervenția mai multor organe și țesuturi dar în care rolurile principale revin plămânilor sub controlul centrului respirator din trunchiul cerebral, precum și activității rinichilor (1,5,6,16).

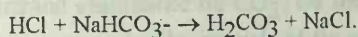
8.1.1. MECANISMUL DE ACȚIUNE AL SISTEMELOR TAMPON. ECUAȚIA HENDERSON-HASSELBACH. NOȚIUNEA DE PH

Conform concepției moderne, acizii sunt substanțe care cedează H^+ , iar bazele sunt compuși care acceptă cu ușurință H^+ . Noțiunea de bază nu este identică cu cea de alcalii, prin care se înțeleg substanțele capabile să cedeze hidroxil (OH^-).

O pereche tampon este alcătuită dintr-un acid slab (puțin disociat) și o sare a acestui acid cu un cation reactiv. Principalele astfel de sisteme tampon de la nivelul sângelui sunt reprezentate de:



Procesul de tamponare constă din înlocuirea unui acid puternic, de către un acid slab, având drept consecință menținerea relativ constantă a ionilor de hidrogen. Un exemplu ilustrativ de tamponare este adaosul de acid clorhidric la sistemul acid carbonic/bicarbonat:



În acest fel acidul puternic este transformat într-o sare de sodiu, iar H^+ sunt captați de anionul HCO_3^- (bază), formând acid carbonic. Acesta disociază doar în mică măsură, gradul de disociere fiind diminuat și de prezența anionilor bicarbonat proveniți din disocierea sării tampon ($NaHCO_3$). Întrucât în baza legii maselor:

$$\frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-][H^+]} = K.$$

creșterea concentrației de HCO_3^- va deplasa spre stânga sensul reacției $H_2CO_3^- \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$, diminuând astfel disocierea acidului carbonic și eliberarea de H^+ . În acest fel "șocul" de H^+ produs de acidul puternic este amortizat de sistemul tampon care captează H^+ sub formă nedisociată în acceptorul de H^+ (bază), care în cazul de față este HCO_3^- .

Din ecuația de mai sus se poate evalua concentrația ionilor de hidrogen:

$$[H^+] = K \frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-]}$$

Întrucât concentrația ionilor de hidrogen $[H^+]$ din lichidele biologice este foarte joasă (de ordinul 10^{-7}) s-a convenit ca măsura acestei concentrații să fie exprimată de o valoare logaritmică. Noțiunea de pH poate fi deci definită ca fiind:

- logaritmul negativ al $[H^+]$ sau
- ca logaritmul valorii reciproce a $[H^+]$.

De exemplu, dacă $[H^+] = 10^{-7}$ $pH = -\log 10^{-7}$; respectiv $pH = 7$; sau $\log 1/10^{-7} = 7$.

Aplicând noțiunile de mai sus la relația:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = \log \left(\frac{1}{K} \times \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} \right)$$

respectiv:

$$pH = \log \frac{1}{K} + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Notând $\log 1/K$ cu simbolul pK se ajunge la expresia:

$$pH = pK + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

care reprezintă ecuația lui Henderson și Hasselbach și este valabilă pentru orice sistem tampon sub forma generalizată:

$$pH = pK + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

În cazul tamponului bicarbonat/acid carbonic $pK = 6.1$; deci:

$$pH = 6.1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Atunci când raportul între $[HCO_3^-]$ și H_2CO_3 este 20 și întrucât $\log 20 = 1.3$, $pH = 6.1 + 1.3 = 7.4$.

Rezultă deci că pentru existența unui pH normal raportul între concentrațiile de bicarbonat și de acid carbonic trebuie să fie 20/1 (de exemplu 24 mEq bicarbonat și 1,2 mEq acid carbonic) ori de câte ori scade numărătorul (bicarbonatul) sau crește numitorul (acidul carbonic) valoarea acestui raport scade și se va ajunge la o deviere spre latura acidă, respectiv o scădere a pH; invers, creșterea bicarbonaților sau scăderea acidului carbonic vor duce la o creștere a pH adică la o deviere spre latura alcalină (1,5,6,16).

De notat că exprimarea logaritmică a concentrației ionilor de hidrogen, sub forma valorilor de pH poate crea o falsă impresie asupra gravității perturbării echilibrului acido-bazic. Astfel o scădere a pH cu doar 0,3 (de exemplu de la pH 7,4 la pH 7,1) indică de fapt o creștere la valori duble ale concentrației ionilor de hidrogen de la 40 nmoli/l la 80 nmoli/l (sau sub altă formă de exprimare de la $4 \cdot 10^{-8}$ la $8 \cdot 10^{-8}$).

8.1.2. MECANISME BIOLOGICE DE REGLARE A ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Procesul de tamponare nu înseamnă și o îndepărtare din organism a ionilor de H^+ , aceștia rămânând fixați de acceptori (baze) sub forma nedisociată. Ca urmare, sistemele tampon constituie doar o măsură temporară, iar acumularea continuă de H^+ poate duce la depășirea capacității de tamponare și la modificarea bruscă a valorii pH. Organismul posedă însă capacitatea de a transforma H^+ în H_2O sau de a îndepărta H^+ prin rinichi și în mai mică măsură prin tubul digestiv. De fapt, la procesele complexe de menținere a echilibrului acido-bazic contribuie toate celulele organismului, un rol particular revenind hematiilor, plămânilor și rinichilor.

8.1.2.1. ROLUL ERITROCITELOR ȘI PLĂMÂNILOR. TRANSPORTUL DE CO_2 ÎN SÂNGE.

Aproximativ 200 ml CO_2 se elimină prin plămâni în decurs de 1 minut, în condițiile de repaus și evident cantități mult mai mari se vor elimina în cursul efortului fizic. Difuzarea CO_2 din sânge în alveole și eliminarea în aerul atmosferic depinde de:

- gradientul de presiune parțială;
- amplitudinea și frecvența mișcărilor respiratorii respectiv a procesului de ventilație;
- tensiunea superficială de la nivelul alveolelor pulmonare, reducerea acestei tensiuni fiind asigurată de surfactantul pulmonar fosfolipidic.

Presiunea parțială a CO_2 (PCO_2) este de 46 mm Hg în sângele venos, 40 mm Hg în aerul alveolar și de abia 0,3 mm Hg în aerul atmosferic, aceste gradiente de presiune parțială favorizând eliminările de CO_2 . De menționat că sistemul internațional (SI) recomandă ca exprimarea presiunilor parțiale să fie sub formă de "pascali" (Pa): 1 mm Hg = 133,3224 Pa, astfel încât pentru transformare dintr-o formă de exprimare în alta, mm Hg \times 0,1333 = kPa, iar kPa \times 7,5 = mm Hg.

Conform SI presiunea parțială a CO_2 (PCO_2) în aerul alveolar (și în sângele arterial) ar fi de 5,3 kPa. Majoritatea laboratoarelor utilizează însă în continuare vechea formă de exprimare sub formă de mm Hg.

Ventilația, respectiv procesul mecanic de mișcare a aerului spre plămâni și în afara acestora, asigură frecvența cu care se fac schimburile gazoase, iar mișcările respiratorii se află sub controlul centrului respirator din trunchiul cerebral. Acest centru răspunde prin amplificarea impulsurilor în caz de creștere a PCO_2 și respectiv a scăderii pH în plasma și lichidul cerebro-spinal. Amplificarea mișcărilor respiratorii are loc și în caz de scădere a PO_2 , organismul fiind dotat cu receptori sensibili la hipoxie.

Surfactantul pulmonar este un compus cu structură fosfolipidică și efect tensioactiv, care tapetează perețele alveolelor sub forma unei fine pelicule și are rol de prevenire a colabării pereților alveolari, favorizând totodată schimburile gazoase.

Pentru ca CO_2 , produs prin procese de catabolism la nivelul țesuturilor, să ajungă în plămâni este nevoie de asigurarea unui transport deosebit de eficient prin sânge, iar hematiile joacă un rol esențial în acest proces.

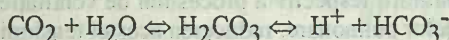
Transportul de CO_2 prin sânge se realizează sub 3 forme diferite:

1. o mică cantitate de CO_2 se găsește dizolvată în sânge putând trece în acid carbonic conform reacției $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$; cantitatea de CO_2 dizolvat nu trece de 2,7-3 ml/100 ml sânge (respectiv 1,2-1,3 mmoli/l);
2. o cantitate similară de CO_2 se găsește sub formă combinată cu proteinele și în special cu hemoglobina sub formă de compuși carbaminici $\text{HbNH}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HbNHCOOH}$;
3. principala formă de transport este însă sub formă de bicarbonați în combinație cu cationii de sodiu și de potasiu (aproximativ 24 mmoli bicarbonat/l sânge).

Deși plasma conține mai bine de două treimi din cantitatea totală de CO_2 a sângelui, eritrocitele joacă un rol esențial în acest transport datorită:

- a. conținutului în anhidrază carbonică;
- b. prezenței hemoglobinei și diferențelor în privința gradului de disociere între hemoglobina redusă și oxihemoglobină;
- c. particularităților membranei eritrocitelor care în condiții normale este permeabilă pentru H^+ , CO_2 , HCO_3^- , Cl^- și H_2O și practic impermeabilă pentru Na^+ și K^+ .

Anhidraza carbonică catalizează reacția reversibilă de formare a acidului carbonic din CO_2 și H_2O iar acidul carbonic, format astfel poate apoi disocia, punând în libertate H^+ și HCO_3^- .



Reacția arătată mai sus poate avea loc și spontan, dar anhidraza carbonică o accelerează de peste 100 de ori. De notat că activitatea anhidrazei carbonice este reglată de către presiunea parțială a CO_2 (PCO_2). Astfel la nivelul țesuturilor unde PCO_2 este mai crescută (în medie 46 mm Hg) reacția este deviată spre dreapta, adică spre formarea de acid carbonic, iar la nivelul plămânilor, unde PCO_2 este de 40 mm Hg, reacția este împinsă spre eliberarea de CO_2 care difuzează apoi în alveole. Cantitățile importante de anhidrază carbonică se găsesc și în celulele tubilor renali unde asigură eliminarea H^+ în urină, precum și în celule parietale ale mucoasei gastrice unde anhidraza joacă un rol important în procesul de secreție a acidului clorhidric.

Hemoglobina contribuie la transportul de CO_2 nu doar prin formarea de compuși carbaminici, ci mai ales prin variații ale gradului său de disociere, care contribuie la procesul de tamponare a H^+ și de formare a bicarbonaților. S-a arătat astfel că hemoglobina oxigenată la nivelul plămânilor sub formă de oxihemoglobină este un acid de 40 ori mai puternic decât hemoglobina redusă care a cedat oxigen la nivelul țesuturilor. Ca urmare, oxihemoglobina pune în libertate H^+ , iar hemoglobina redusă acționează ca o bază legând H^+ sub formă nedisociabilă. Așa cum reiese din Fig.8.1, efectele mai sus menționate se datorează mai ales grupărilor imidazol ale histidinei din structura globinei.

Rolul permeabilității selective a membranei hematiilor și respectiv fenomenul de membrană descris de Hamburger sunt prezentate schematic în figurile 8.2 și 8.3.

La nivelul țesuturilor unde PCO_2 este mai crescută, CO_2 din lichidul extracelular va difuza în eritrocite unde sub acțiunea anhidrazei carbonice va forma acid carbonic, conform

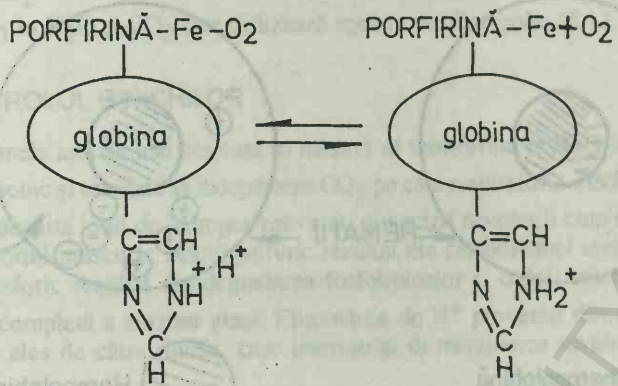


Fig. 8.1 Efectul oxigenării hemoglobinei asupra gradului său de disociere și implicit asupra capacității de tamponare. Legarea O₂ la hemoglobină face ca inelul imidazolic al histidinei din globină să elibereze H⁺ crescându-se aciditatea hemoglobinei.

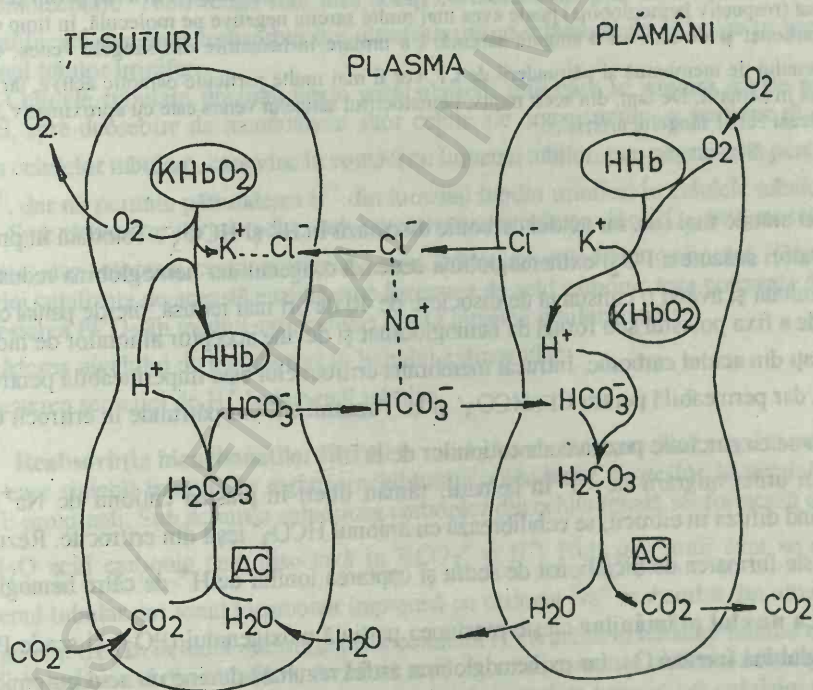


Fig. 8.2. Fenomenul de membrană Hamburger și deplasarea ionilor de clor. Detalii în text. KHbO₂ = oxihemoglobinat de potasiu. HHb = hemoglobină redusă; AC = anhidrază carbonică.

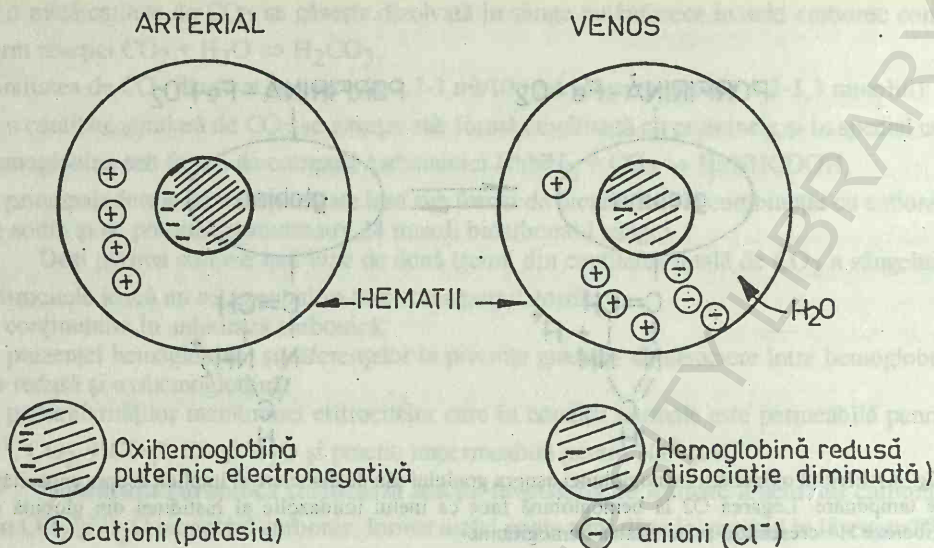


Fig.8.3. Echilibrul între anioni și cationi în interiorul hematiilor din sângele arterial și din cel venos. Proteina (respectiv hemoglobina) poate avea mai multe sarcini negative pe moleculă, în timp ce ioni de bicarbonat și de clor au o singură sarcină. Ca urmare în hematiile din sângele venos, datorită fenomenului de membrană și pătrunderii de Cl^- vor fi mai multe particule osmotice active, iar apa va fi atrasă în hematii. De fapt, din acest motiv, hematocritul sângelui venos este cu aproximativ 3% mai mare decât cel al sângelui arterial.

reacției arătate mai sus, iar acidul carbonic disociază în H^+ și HCO_3^- . Totodată în prezența unei valori scăzute a PO_2 , oxihemoglobina cedează oxigenul, iar hemoglobina redusă, astfel rezultată și având o constantă de disociere de 40 de ori mai redusă, pierde parțial capacitatea de a fixa potasiul sub formă de hemoglobinat și devine acceptor al ionilor de hidrogen disociați din acidul carbonic. Întrucât membrana eritrocitelor este impermeabilă pentru Na^+ și K^+ , dar permeabilă pentru Cl^- , HCO_3^- și H^+ , anionii Cl^- vor pătrunde în eritrocit echilibrându-se cu sarcinile pozitive ale cationilor de K^+ .

În urma migrării de Cl^- în hematii, rămân liberi în plasmă cationii de Na^+ , care neputând difuza în eritrocit, se echilibrează cu anionul HCO_3^- ieșit din eritrocite. Rezultatul final este formarea de bicarbonat de sodiu și captarea ionilor de H^+ de către hemoglobina redusă.

La nivelul plămânilor crește presiunea parțială a oxigenului (PO_2) și scade PCO_2 . Hemoglobina fixează O_2 , iar oxihemoglobina astfel rezultată devine un acid puternic care eliberează H^+ și fixează ionii de K^+ sub formă de oxihemoglobinat de potasiu. Ionii de Cl^- electronegativi vor părăsi deci hematiile și ajunși în plasmă vor reacționa cu bicarbonații, fixând sodiul și eliberând ionul HCO_3^- . Acesta pătrunde în hematii și împreună cu H^+

eliberat prin disocierea oxihemoglobinei formează acid carbonic. Întrucât la nivelul plămânilor PCO_2 este relativ scăzută, anhidraza carbonică va acționa în sensul descompunerii H_2CO_3 în H_2O și CO_2 care difuzează apoi în aerul alveolar (5,12,16).

8.1.2.2. ROLUL RINICHILOR

Mecanismele arătate mai sus sunt în măsură să transforme în H_2O ionii de hidrogen din acidul carbonic și totodată să îndepărteze CO_2 pe cale respiratorie. Astfel de mecanisme nu pot însă îndepărta ionii de hidrogen proveniți din acizii nevolatili cum sunt acidul lactic rezultat din efortul muscular, acidul sulfuric rezultat din catabolismul aminoacizilor sulfurați, acidul fosforic rezultat din degradarea fosfolipidelor și corpii cetonici produși prin degradarea incompletă a acizilor grași. Eliminările de H^+ proveniți din aceste surse sunt asigurate mai ales de către rinichi, care intervin și în menținerea nivelului plasmatic de bicarbonați.

Mecanismele prin care rinichii intervin în reglarea echilibrului acido-bazic sunt prezentate în fig.8.4.

Este evident că la nivelul glomerulilor se vor filtra nu numai diverșii acizi nevolatili (de regulă sub formă de săruri de sodiu), dar și toți electroliții, inclusiv sistemele tampon micromoleculare. Tubii renali sunt însă dotați cu mecanisme prin care cationii de Na^+ și anionii bicarbonat sunt reabsorbiți din ultrafiltrat fiind schimbați cu H^+ care se secretă în lumenul tubilor uriniferi.

Celulele tubulare prezintă unele particularități prin care se asigură aceste procese. Astfel, spre deosebire de membranele altor celule ale organismului, o porțiune din membrana celulelor tubulare, care vine în contact cu lumenul tubilor, este permeabilă pentru Na^+ și K^+ , dar nu permite pătrunderea H^+ din lumenul tubilor uriniferi în celulele tubulare.

Spre deosebire de eritrocite, celulele tubulare renale produc CO_2 prin metabolism aerobic, dar întocmai ca și eritrocitele sunt dotate cu anhidrază carbonică. Deplasarea reacției catalizate de această enzimă spre formarea de acid carbonic este potențată de:

- creșterea PCO_2 în mediul extracelular sau în lumenul tubilor renali;
- scăderea nivelului de bicarbonați în lichidul extracelular;
- creșterea secreției de H^+ în lumenul tubular.

Reabsorbția bicarbonaților filtrați la nivel glomerular reprezintă un prim mecanism prin care rinichii intervin în reglarea echilibrului acido-bazic și are loc la nivelul tubilor renali proximali. Sub acțiunea anhidrazei carbonice din celula renală se formează din CO_2 și H_2O acid carbonic care disociază în HCO_3^- și H^+ . Hidrogen ionii sunt secretați în lumenul tubular, iar ionul bicarbonat împreună cu cationul Na^+ reabsorbit din ultrafiltratul glomerular trec în lichidul interstițial. Concomitent H^+ secretat în lumenul tubular este captat de bicarbonatul din ultrafiltrat formând acid carbonic, care este însă rapid descompus în CO_2 și H_2O de către o altă anhidrază carbonică la suprafața membranei celulelor tubulare renale aflate în contact direct cu lumenul tubilor renali. CO_2 difuzează în celula renală, reluându-se procesul mai sus arătat. De notat că H^+ secretat este în cea mai mare măsură

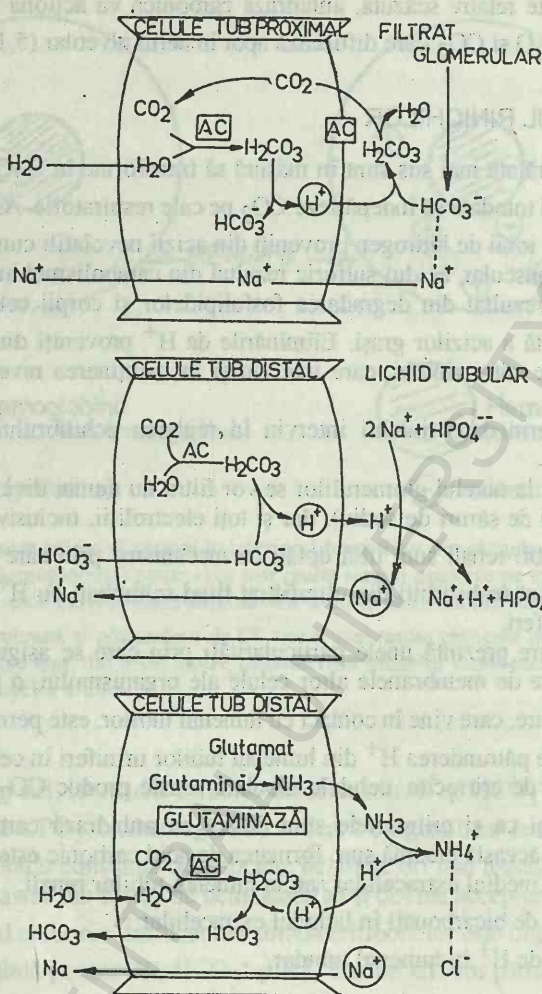


Fig. 8.4. Rolul rinichilor în reglarea echilibrului acidobazic.

A. Reabsorbția bicarbonaților în tubul proximal.

B. Secreția de H^+ în tubul distal. Intervenția sistemului tampon de fosfați.

C. Producerea de amoniac în tubul distal.

AC = anhidraza carbonică. Detalii în text.

transformat în H_2O , astfel încât pH-ul urinei nu suferă inițial modificări importante la nivelul tubilor proximali. Pe măsură însă ce se reabsorb în continuare bicarbonații, valoarea pH din urină scade, iar la un pH urinar sub 6,5 acești anioni sunt practic absenți în lumenul tubular.

Transformarea fosfatului disodic din ultrafiltrat în fosfat monosodic are loc la nivelul tubilor distali. Ioni de hidrogen, formați prin același mecanism catalizat de

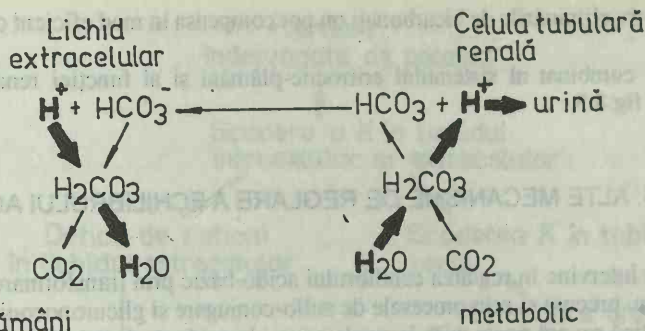


Fig. 8.5. Schema simplificată a intervecției plămânilor și rinichilor în tamponarea ionilor de hidrogen și în eliminarea lor.

anhidraza carbonică, difuzează în lumenul tubular și reacționează cu fosfatul disodic (Na_2HPO_4) formând fosfat monosodic (NaH_2PO_4), iar cationul Na^+ , astfel eliberat, difuzează în celulele tubulare și de acolo în lichidul interstițial sub formă de bicarbonați de sodiu, după o prealabilă echilibrare cu anionul HCO_3^- format în celulele renale prin reacția mai sus amintită. În urma acestor procese urina câștigă H^+ , iar pH-ul urinar scade (de regulă sub pH 6), în timp ce sângele realizează un câștig net de bicarbonat de Na.

Producția de amoniac la nivelul tubilor distali, constituie un alt mecanism de eliminare a H^+ , procesul accentuându-se în caz de acidoză. Acest mecanism, completat cu acțiunea mai sus amintită a anhidrazei carbonice este deosebit de eficient. Amoniacul (NH_3) rezultă prin deamidarea glutaminei sub acțiunea glutaminazei, iar glutamatul produs mai poate furniza o moleculă de NH_3 sub acțiunea glutamat-dehidrogenazei. Amoniacul, fiind liposolubil, traversează cu ușurință membrana lipoidică a celulelor tubulare renale, difuzând în lumen. Aici, NH_3 reacționează cu H^+ și formează ioni de amoniu (NH_4^+). Spre deosebire de amoniac, ionii de amoniu sunt relativ insolubili în lipide, nu pot difuza în celule și rămân în fluidul din lumenul tubular, unde se echilibrează cu anioni, ca de exemplu Cl^- . Ca urmare, se favorizează reabsorbția unor noi cantități de ioni de Na^+ așa cum reiese din fig.8.4.

Cantitatea de ioni de NH_4^+ , formată în urină, depinde de intensitatea secreției de H^+ . În condiții normale, un adult excretă în urină 0,6-0,8 g amoniu/24 ore. Într-o urină alcalină, excreția de amoniu tinde spre zero, iar în caz de acidoză cronică (de exemplu acidoza diabetică prelungită) se pot elimina zilnic peste 10 g. De notat că acidoza și creșterea PCO_2 stimulează activitatea glutaminazei în celulele tubilor renali (16).

Excreția de bicarbonați survine doar când concentrația plasmatică a acestora depășește 28 mEq/l, iar în astfel de situații urina devine alcalină. De notat că așa cum se arată în fig.8.4, ionul bicarbonat nu este reabsorbit direct, printr-un proces activ de transport. Datorită însă transformării bicarbonaților în acid carbonic în lumenul tubular, urmată de descompunerea H_2CO_3 în H_2O și CO_2 care difuzează apoi în celulele tubulare, bicarbonații filtrați nu ajung să se elimine în urină decât dacă depășesc valoarea mai sus amintită.

Din acest motiv eliminările de bicarbonați nu pot compensa în mod eficient o alcaloză metabolică.

Efectul combinat al sistemului eritrocite-plămâni și al funcției renale este ilustrat schematic în fig.8.5.

8.1.2.3. ALTE MECANISME DE REGLARE A ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Ficatul intervine în reglarea echilibrului acido-bazic prin transformarea acidului lactic în glicogen, precum și prin procesele de sulfo-conjugare și glicuronoconjugare, iar insuficiența hepatică severă poate duce în unele cazuri la acidoză, dacă bolnavul nu prezintă și o hiperventilație cauzată de excitarea centrului respirator de către substanțele toxice reținute. **Pielea**, prin glandele sudoripare, contribuie doar într-o mică măsură la înlăturarea excesului de acizi, reacția secreției sudorale fiind dependentă de pH-ul sângelui. **Glandele digestive** intervin și ele, sucii gastrici fiind de regulă mai acizi în stările de acidoză, iar pierderile masive de sucuri digestive alcaline în diareile profuze și prelungite duc la acidoză (5,6,12,16).

8.1.2.4. RELAȚIA DINTRE ECONOMIA POTASIULUI ȘI ECHILIBRUL ACIDO-BAZIC

Întrucât între H^+ și de K^+ există o competiție în privința eliminărilor la nivelul tubulilor renali, economia potasiului se află în strânsă și reciprocă conexiune cu echilibrul acido-bazic.

a. Efectele hipo- și hiperpotasemiilor asupra echilibrului acido-bazic.

În cazul unei depleții severe de potasiu, ca de exemplu după un tratament îndelungat cu corticoizi, se ajunge la o scădere a acestui cation nu numai în umori, dar și în celulele tubulilor renali. În lipsa competiției furnizate de K^+ se vor elimina cantități sporite de H^+ în urină care devine intens acidă. Deoarece secreția sporită de H^+ se asociază cu o accentuare a reabsorbției de bicarbonați, ionul bicarbonat va crește în plasmă. Pe de altă parte depleția de potasiu, la nivelul altor celule ale organismului, duce la pătrunderea H^+ în aceste celule, în baza tendinței de refacere a echilibrului electrostatic. De notat că membranele celulare sunt permeabile pentru H^+ , dar că prin acțiunea "pompei de sodiu" acest cation (adică Na^+) nu poate pătrunde în celule și nu poate înlocui deficitul de potasiu.

Difuzarea H^+ din sânge în celule, asociată eliminărilor crescute de H^+ în urină și implicit reabsorbției crescute de bicarbonați, vor duce la o deviere a valorilor de pH ale sângelui spre latura alcalină. Așa cum reiese din figura 8.6 în astfel de cazuri se ajunge la acidoză intracelulară, alcaloză umorală și la excreția unei urini foarte acide (acidurie paradoxală). Anomaliile descrise mai sus se reduc după corectarea deficitului de potasiu. Dacă acest deficit persistă un timp mai îndelungat, se poate ajunge la instalarea unor leziuni ireversibile ale celulelor tubulare. În această situație reabsorbția tubulară de bicarbonați scade, iar alcaloza extracelulară va diminua pe măsură ce funcția renală se alterează.

Excesul de potasiu ar trebui, din punct de vedere teoretic să ducă la acidoză extracelulară. Practica clinică arată însă că de cele mai multe ori hiperpotasemia și acidoza extracelulară sunt cauzate de o insuficiență renală, când se perturbă atât eliminările de pota-

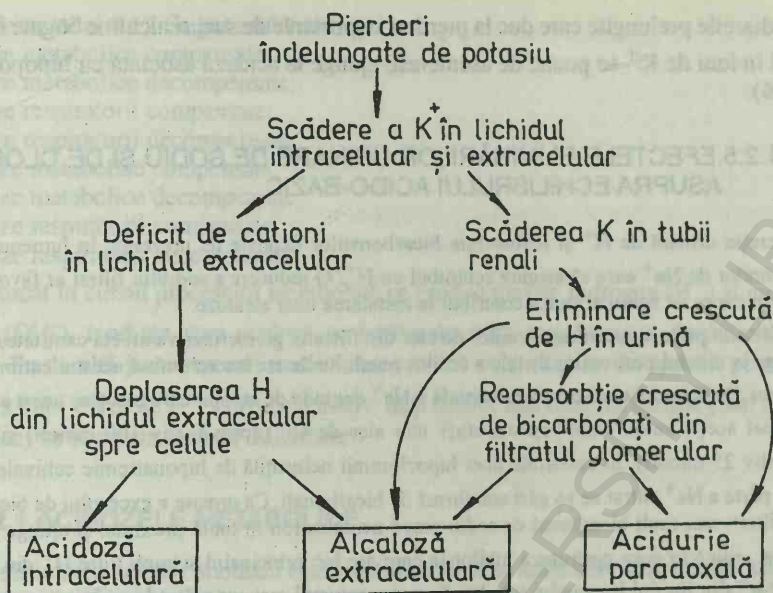


Fig. 8.6. Reprezentarea schematică a mecanismelor care determină perturbarea echilibrului acido-bazic în deficitul de potasiu. Noțiunea de acidurie paradoxală atrage atenția în privința contrastului între o urină acidă și un nivel crescut al bicarbonaților plasmatici.

siiu cât și cele de H^+ . Este evident că în aceste cazuri acidoza nu este o consecință a hiperpotasemiei.

b. Efectele acidozei sau alcalozei asupra economiei potasiului

Datorită competiției, mai sus amintite, între eliminările urinare de H^+ și de K^+ , acidozele se soldează de cele mai multe ori cu creșterea potasiului seric. De fapt, eliminările sporite de H^+ la nivelul tubilor renali, interferează cu eliminările de K^+ , acest cation reținându-se în plasmă. La creșterile de K^+ în lichidul extracelular contribuie, în mai mică măsură, și dislocările acestui cation din celule de către excesul de H^+ din sânge.

Pe de altă parte, în caz de alcaloză, de exemplu după administrarea de bicarbonat de sodiu unui subiect normal, sau după vărsături incoercibile și pierderi de H^+ , scăderea concentrației de H^+ în sânge și în celulele renale, va avea drept efect o eliminare crescută de K^+ în urină. În astfel de cazuri, pierderile urinare de K^+ și hipopotasemia apar ca o consecință a alcalozei, iar urina va fi alcalină.

La o situație particulară se ajunge în urma administrării de acetazolamidă, un inhibitor al anhidrazei carbonice când se reduce formarea de acid carbonic și implicit scad eliminările de H^+ la nivelul tubilor renali. Ca urmare, se vor accentua eliminările urinare de K^+ astfel încât se instalează o acidoză însoțită de hipopotasemie. Asocierea acidozei cu hipopotasemia se mai întâlnește în așa-zisa "acidoză renală tubulară" cauzată de deficite genetice sau câștigate ale mecanismelor de eliminare tubulară a H^+ . Asupra acestor aspecte se va reveni ulterior.

În diareile prelungite care duc la pierderi importante de sucuri alcaline bogate în bicarbonați și în ioni de K^+ se poate, de asemenea, ajunge la acidoză asociată cu hipopotasemie (10,12,16).

8.1.2.5.EFECTELE ELIMINĂRILOR URINARE DE SODIU ȘI DE CLOR ASUPRA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Excreția urinară de H^+ și reabsorbția bicarbonaților depinde de prezența, în lumenul tubilor renali, a ionilor de Na^+ care să asigure schimbul cu H^+ . O reducere a sodiului filtrat ar favoriza acidoza, iar un exces de sodiu ar putea contribui la instalarea unei alcaloze.

Pe de altă parte, concentrația ionilor de clor din filtratul glomerular va afecta cantitatea de Na^+ care ajunge la nivelul porțiunilor distale a tubilor renali, unde are loc schimbul acestui cation cu ioni de hidrogen. De notat că reabsorbția proximală a Na^+ depinde de anionii care însoțesc acest cation. În mod normal acești anioni sunt reprezentați mai ales de Cl^- (aproximativ 100 mmoli) și HCO_3^- (aproximativ 25 mmoli). În condițiile unei hipocloremii neînsoțită de hiponatremie echivalentă, cea mai mare parte a Na^+ filtrat se va găsi sub formă de bicarbonați. Ca urmare a excesului de bicarbonați din ultrafiltrat, mai mult bicarbonat de sodiu scapă nereabsorbit în tubul proximal și ajunge astfel în tubul distal, adică în acea porțiune a tubilor la care are loc principalul schimb între H^+ din celulele renale și Na^+ din fluidul lumenului tubular. Prin mecanismul mai sus arătat hipocloremia va duce la agravarea unei alcaloze (16).

8.2. ANOMALII ALE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC. ACIDOZE ȘI ALALOZE

Așa cum a reieșit din cele expuse anterior, tamponul bicarbonat/acid carbonic este esențial în determinarea valorilor de pH, iar componentele sale pot fi cu ușurință determinate. Totodată orice perturbare a homeostaziei ionilor de hidrogen, va afecta sistemul tampon mai sus menționat. Din aceste motive este convenabil de a se discuta perturbările echilibrului acido-bazic în funcție de modificările raportului $[HCO_3^-]/PCO_2$. Atunci când anomalia duce la scăderea bicarbonaților se ajunge la **acidoze metabolice**, iar o creștere a bicarbonaților va realiza **alcaloza metabolică**. Pe de altă parte, în anomaliile care duc la creșterea PCO_2 se va dezvolta o **acidoză respiratorie**, în timp ce scăderea PCO_2 semnalează o **alcaloză respiratorie**.

În dereglările de **cauză metabolică** a echilibrului acido-bazic, mecanismele compensatorii se exercită la nivelul plămânilor afectând PCO_2 care se modifică în același sens cu bicarbonatul, scăzând în acidoze și crescând (ineficient) în alcaloze.

În dereglările de **cauză respiratorie**, mecanismele compensatorii se realizează la nivel renal prin reglarea reabsorbției bicarbonaților. Astfel, efortul de compensare într-o acidoză respiratorie este dirijat spre creșterea concentrației de bicarbonați, pe când într-o alcaloză respiratorie se tinde spre limitarea reabsorbției bicarbonaților și scăderea concentrației lor în sânge. Reacțiile compensatorii pot corecta parțial sau total valorile pH, dar $[HCO_3^-]$ și respectiv PCO_2 rămân anormale până la corectarea anomaliilor primare. În funcție de modificările suferite de pH, acidozele și alcalozele pot fi compensate sau decompensate.

pensate (vezi tabel 8.1). Se pot astfel distinge:

- 1) acidoze metabolice compensate;
- 2) acidoze metabolice decompensate;
- 3) acidoze respiratorii compensate;
- 4) acidoze respiratorii decompensate;
- 5) alcaloze metabolice compensate;
- 6) alcaloze metabolice decompensate;
- 7) alcaloze respiratorii compensate;
- 8) alcaloze respiratorii decompensate.

Întrucât în cursul proceselor metabolice se produc ioni de hidrogen (H^+) și nu ioni de hidroxil (OH^-), tendința spre acidoză se întâlnește mult mai frecvent decât tendința la alcaloză. Pe de altă parte, mecanismele homeostatice sunt adaptate în special pentru contracararea unui exces de H^+ . Din acest motiv, deși relativ mai rare, alcalozele (mai ales cele metabolice) se compensează cu dificultate.

8.2.1.ACIDOZELE METABOLICE

În discutarea acestor anomalii este important de a se arăta care sunt stările patologice evoluând cu acidoză metabolică, care sunt mecanismele compensatorii și care sunt consecințele asupra organismului. Anomalia primară în acidozele metabolice constă în scăderea bicarbonaților și ea se poate datora:

1. unei utilizări crescute a bicarbonaților în procesul de tamponare, această utilizare depășind capacitatea rinichilor de a înlocui bicarbonații consumați;
2. unor pierderi extrarenale de bicarbonați într-un ritm care depășește capacitatea rinichilor de a-i înlocui;
3. unei perturbări a proceselor generatoare de bicarbonați de la nivelul tubilor uriniferi.

8.2.1.1.UTILIZAREA CRESCUTĂ A BICARBONAȚILOR ÎN PROCESUL DE TAMPONARE (STĂRI PATOLOGICE CARE DUC LA O SUPRAPRODUCȚIE DE H^+)

Producerea multor metaboliți anionici se asociază cu eliberarea de H^+ . O parte a H^+ este metabolizată în continuare, dar în cazul blocării unei căi metabolice, H^+ va fi tamponat cu HCO_3^- formând acid carbonic. Cât timp adaosul de H^+ la lichidul extracelular nu este prea rapid, generarea de HCO_3^- la nivelul tubilor renali și secreția de H^+ pot preveni o scădere importantă a concentrației bicarbonaților din sânge. Depășirea acestor mecanisme de către o producție excesivă de H^+ , duce la scăderea bicarbonaților care sunt înlocuiți de către o cantitate echivalentă de metaboliți anionici. Valorile pH mai pot fi încă menținute în limite normale printr-o accelerare a eliminărilor de CO_2 (hiperventilație), dar capacitatea de tamponare rămâne scăzută. Atunci când și acest mecanism este depășit se ajunge la scăderea valorii pH și la instalarea unei acidoze metabolice decompensate.

Principalele cauze care duc la utilizarea crescută a bicarbonaților, la subiectul adult,

urina, chiar și în prezența unei acidoze sistemice severe. În timp ce activitatea anhidrazei carbonice și implicit reabsorbția bicarbonaților decurg normal la nivelul tubulilor proximali, celulele tubulare distale sunt incapabile să excrete H^+ și să genereze bicarbonați. Acest deficit se datorează unei anomalii a membranei luminale a acestor celule care devin permeabile pentru H^+ secretat în lumen, astfel încât acești ioni de hidrogen redifuzează în celulele tubulare distale unde inhibă anhidraza carbonică. Ca urmare se perturbă generarea de bicarbonați și acidifierea urinei. Acidoza tubulară distală poate avea un caracter familial sau câștigat. În toate cazurile anomalia se instalează însă în mod secundar, ca urmare a lezării celulelor tubulare distale. Între anomaliile genetice de metabolism care produc acest efect se citează boala Wilson (depunere de cupru în tubii renali distali), cistinoza (depunerea de cistină), galactozemia (depunerea de galactozo-1-fosfat), intoleranța ereditară la fructoză (depunerea de fructozo-1-fosfat) și boala Fabry (depunerea de glucosfingolipide anormale).

Lezarea tubulilor renali distali poate surveni și sub acțiunea unor toxice ca de exemplu amfotericina B și mercurul. Hipercalcemiile severe și proteinuria Bence-Jones, apărută în cadrul unui mielom multiplu, pot duce de asemenea la impregnarea tubulilor renali distali.

Acetazolamida, un inhibitor al anhidrazei carbonice, produce un efect similar cu cel al acidozelor tubulare, iar un tratament prelungit poate duce la acidoză metabolică asociată cu hipercloremie și hipopotasemie.

De notat că diferite forme de nefrite sau cauze extrarenale care duc la scăderea filtratului glomerular și implicit la reducerea cantităților totale de sodiu și de fosfați din ultrafiltrat pot afecta corectarea prin mecanism renal a unei acidocetoze sau a unei acidoze lactice.

Pielonefritele pot afecta selectiv tubii renali, dar acidozele date de o insuficiență renală globală sunt mai comune. Acestea se asociază cu creșterea în ser a ureei și creatininei, iar, spre deosebire de acidozele tubulare, evoluează cu hiperpotasemie.

Toate acidozele prelungite favorizează decalcifierea oaselor și duc la eliminări urinare crescute de calciu. Atât timp cât urina este acidă, precipitarea sărurilor de calciu este prevenită, dar în acidoza tubulară distală, când urina este alcalină se ajunge frecvent la formarea de calculi sau la nefrocalcinoză (3,8,16).

8.2.2. ALCALOZELE METABOLICE

Acest tip de dereglare a echilibrului acido-bazic se întâlnește relativ rar și de multe ori este provocat de pacient sau de medicul curant. Creșterea bicarbonaților se însoțește de regulă de hipopotasemie și de scăderea calciului ionic ceea ce creează o predispoziție la tetanie.

Efortul de corecție în alcaloza metabolică constă în creșterea PCO_2 , prin reducerea funcției respiratorii, și mai ales prin inhibarea sistemului enzimatic al anhidrazei carbonice din tubii renali de către concentrația crescută a bicarbonaților în lichidul extracelular. De subliniat că mecanismele compensatorii din alcaloza metabolică au o eficiență redusă.

Creșterile, cu caracter inițial, ale bicarbonaților din sânge survin în trei situații.

1. **Administrarea terapeutică a unor mari cantități de bicarbonat** sub formă de infuzii intravenoase sau chiar pe cale orală, poate depăși capacitatea de eliminare la nivel renal, mai ales în cazurile în care există o reducere a filtratului glomerular.

2. **Depleția severă de potasiu** poate provoca alcaloză metabolică prin mecanismul descris anterior (vezi fig.8.6), iar eficiența administrării terapeutice de potasiu se poate evi-

denția și prin scăderea concentrației bicarbonaților din sânge.

3. **Stenoza pilorică** duce la instalarea unei alcaloze metabolice cu caracter particular atât în privința mecanismelor de producere cât și a manifestărilor umorale. Se știe că secreția de HCl de către celulele parietale ale mucoasei gastrice este condiționată de acțiunea anhidrazei carbonice, astfel încât pentru fiecare mmol de H^+ secretat în stomac (întovărășit de Cl^-), se generează un mmol de HCO_3^- , care trece în plasmă înlocuind anionul Cl^- .

În mod normal, acest proces este urmat de secreția de HCO_3^- în duoden. În caz de vărsături survenite la un subiect cu pilor permeabil, pierderile de HCl se însoțesc și de pierderi de bicarbonați refluați în stomac, astfel încât echilibrul acido-bazic este afectat doar în mică măsură. În cazul unui bolnav cu stenoză pilorică, obstrucția dintre stomac și duoden face ca pierderile de H^+ și generarea de HCO_3^- să nu fie întovărășite de o pierdere de bicarbonați, iar dacă nu survine o eliminare rapidă a acestora la nivelul rinichilor, se va instala o alcaloză metabolică.

Corectarea alcalozei la bolnavii cu stenoză pilorică este stânjenită de o serie de factori. Astfel deshidratarea va duce la scăderea filtratului glomerular și implicit la reducerea eliminărilor urinare de bicarbonați. De notat cu acest prilej că reducerea irigației renale și a filtratului glomerular poate agrava atât o acidoză cât și o alcaloză. Totodată, reducerea volumului lichidului extracelular și a irigației rinichilor poate determina o secreție crescută de aldosteron care favorizează reabsorbția de Na^+ și eliminările de K^+ . Aceasta duce la o agravare atât a alcalozei cât și a hipopotasemiei. De precizat că hipopotasemia nu este o consecință directă a pierderilor de K^+ prin vărsături, ci survine ca urmare a alcalozei, respectiv a reducerii concentrației de H^+ în celulele tubilor renali.

Un alt factor agravant este hipocloremia cauzată de pierderile de Cl^- prin vărsături. În consecință se reduce și clorul din filtratul glomerular, ceea ce împiedică asupra reabsorbției isoosmotice proximale a ionilor de Na^+ în echilibrul electrostatic cu Cl^- . Ca urmare mai mult Na^+ ajunge în tubii distali pentru schimb cu H^+ . Ansamblul mecanismelor arătate mai sus se soldează cu o alcaloză hipocloremică și hipopotasemie (16).

Așa cum se va vedea în cele ce urmează creșterea bicarbonaților sanguini în bolile aparatului respirator survin în mod secundar și au caracterul unui mecanism compensator.

8.2.3. ACIDOZELE RESPIRATORII ȘI HIPOXIA

Anomalia inițială în acidoza respiratorie este reprezentată de creșterea PCO_2 , iar gradul de compensare depinde de activitatea anhidrazei carbonice la nivelul tubilor renali și respectiv generarea de bicarbonați și eliminarea de H^+ (vezi tabel 8.1). De notat că procesul de compensare este de multe ori inefficient atunci când insuficiența respiratorie se instalează prea rapid pentru a permite o generare adecvată de bicarbonați în celulele tubilor renali.

8.2.3.1. STĂRI PATOLOGICE CARE PERTURBĂ FUNCȚIA ALVEOLELOR PULMONARE

Întrucât perturbările funcției alveolare afectează atât transportul de CO_2 cât și pe cel

Comportarea p_H, PCO₂ și HCO₃⁻ în anomalii ale echilibrului acido-bazic, în funcție de eficiența mecanismelor compensatorii. Modificările compensatorii pot corecta parțial sau total valorile p_H dar capacitatea tampon rămâne anormală până când se corectează anomalia inițială

Tipul anomaliai	Decompensat			Parțial compensat			Deplin compensat		
	pH	PCO ₂	HCO ₃ ⁻	pH	PCO ₂	HCO ₃ ⁻	pH	PCO ₂	HCO ₃ ⁻
Acidoză Metabolică	↓↓	N ⁺ sau ↓	↓↓	↓	↓	↓↓	N	↓↓	↓↓
Respiratorie	↓↓	↑↑	N sau ↑	↓	↑↑	↑	N	↑↑	↑↑
Alcaloză Metabolică	↑↑	N ⁻ sau ↓	↑↑				Compensarea este relativ inefficientă		
Respiratorie	↑↑	↓↓	N	↑	↓↓	↓			

• Decompensarea se apreciază în funcție de comportarea p_H. Astfel dacă o scădere compensatorie a PCO₂ nu contracarează scăderea exagerată a HCO₃⁻, acidoza metabolică va fi decompensată, valoarea p_H fiind scăzută. Cu alte cuvinte, decompensarea apare fie ca o consecință a deficienței mecanismelor homeostatice cu rol de compensare, fie ca urmare a depășirii acestor mecanisme (de exemplu de către o producere excesivă de acizi într-o acidocetoză diabetică care depășește răspunsurile în sens adevărat ale reabsorbției renale de bicarbonați și de eliminare respiratorie a CO₂).

de O_2 este logic ca aceste defecte să fie discutate împreună. În principiu, schimburile gazoase de la nivelul alveolelor pot fi împiedicate de următoarele cauze:

1. Leziuni ale pereților alveolari care perturbă difuziunea gazelor între sânge și cavitățile alveolare.

2. Sacul alveolar poate fi umplut parțial sau total cu un lichid de edem sau cu un exudat.

3. Pătrunderea aerului în alveole poate fi perturbată de blocarea căilor respiratorii sau prin reducerea amplitudinii mișcărilor respiratorii.

La aceste anomalii se mai adaugă modificările aportului de sânge la plămâni.

În bronșitele acute și cronice, pneumonii lobare și bronhopneumonii intervin mai mult de unul din mecanismele menționate mai sus, afectând porțiuni mai mult sau mai puțin extinse din plămâni.

În edemul pulmonar, lichidul de edem afectează într-un grad mai exprimat difuzarea oxigenului decât difuzarea CO_2 , iar reducerea aerării ambilor plămâni survine în blocarea principalei căi respiratorii (spasm laringian, corp străin în laringe).

Perturbările mișcărilor respiratorii pot fi datorate unor traumatisme, unei spondilite ankilopoietice sau unei obezități excesive (sindrom Pickwick) care duce la hipoventilație.

Leziunile trunchiului cerebral afectând centrul respirator sau oprirea transmiterii influxului nervos spre mușchii cutiei toracice în caz de poliomielită sau nevrite pot de asemenea compromite funcția respiratorie.

O situație particulară este realizată în emfizemul pulmonar și sclerozele pulmonare când la disfuncția alveolelor se adaugă o reducere a aportului de sânge la alveole, cu efecte diferite asupra nivelelor de O_2 și CO_2 în sângele arterial (13).

8.2.3.2. COMPORTAREA PCO_2 ȘI A PO_2 ÎN DISFUNCTIILE RESPIRATORII

Toate stările patologice care duc la creșterea PCO_2 se vor asocia cu o scădere a PO_2 , dar o valoare redusă a PO_2 nu este întotdeauna întovărășită de o creștere a PCO_2 . Comportarea diferită a acestor variabile în bolile aparatului respirator pot avea mai multe cauze.

- a. O primă cauză poate fi reprezentată de difuzibilitatea diferită a celor două gaze, CO_2 având o difuzibilitate de aproximativ 20 de ori mai mare decât oxigenul.

- b. Gradul variabil de extindere a leziunilor pulmonare constituie o altă explicație pentru comportarea diferită a PCO_2 și a PO_2 .

- c. Variații în aportul de sânge la nivelul alveolelor contribuie de asemeni la diferențele între comportarea PCO_2 și a PO_2 .

Un exemplu tipic pentru cele relatate mai sus este furnizat de edemul pulmonar. Perturbarea difuzării în sânge a oxigenului din alveolele pline cu lichid de edem duce la scăderea PO_2 , iar hipoxia excită centrul respirator, având ca urmare o creștere a ventilației. În astfel de condiții CO_2 care este mult mai difuzibil poate fi îndepărtat putându-se ajunge la scăderea PCO_2 .

În caz de pneumonii sau atelectazii limitate, o proporție relativ însemnată de alveole rămâne neafectată, iar creșterea ventilației asigură o bună oxigenare a sângelui în aceste zone funcționale și o eliminare sporită a CO_2 a cărei presiune parțială (PCO_2) poate să

Tabel 8.2.

Comportarea PO_2 și PCO_2 în sângele arterial al bolnavilor cu afecțiuni pulmonare, în funcție de extinderea leziunilor și de gradul de irigație a alveolelor afectate.

	Aportul de sânge la alveolele disfuncționale	PO_2	PCO_2
Leziuni limitate	normal	↓	N sau ↓
	reduc	N sau ↓	↓
Leziuni extinse	normal	↓↓	↑
	reduc	↓	N sau ↑

scadă. Întrucât sângele care vine de la alveolele intacte se amestecă cu sângele provenit din zonele în care oxigenarea a fost compromisă, conținutul în oxigen al sângelui arterial va fi diminuat (PO_2 redus) în timp ce PCO_2 va prezenta valori normale sau scăzute.

Dacă însă, proporția de alveole nefuncționale este mare, scăderea PO_2 va fi mai exprimată și se va asocia cu o creștere a PCO_2 . În cazurile în care PO_2 scade în sângele arterial sub 60 mm Hg se reduce evident gradul de saturare cu oxigen a hemoglobinei și bolnavul devine cianotic.

O situație particulară este reprezentată de stările în care disfuncția alveolară se asociază cu o reducere a aportului de sânge spre zona afectată. Ca urmare, sângele arterial va proveni aproape numai din alveolele normale iar PO_2 se reduce mai puțin decât atunci când alveolelor disfuncționale li se asigură un aport normal de sânge. În astfel de asocieri ale disfuncției alveolare cu reducerea fluxului sanguin pe zona afectată, cianoza apare doar în forme deosebit de extinse și cu evoluție prelungită (vezi tabelul 8.2.).

Ca urmare a mecanismelor descrise mai sus și în funcție de comportarea PO_2 și a PCO_2 în sângele arterial afecțiunile pulmonare pot fi grupate în două categorii:

1) PO_2 scăzut, PCO_2 normal sau scăzut se constată în edem pulmonar, pneumonie francă lobară, atelectazie pulmonară limitată, fibroză sau infiltrații limitate.

2) PO_2 scăzut asociat cu PCO_2 crescut se observă în paralizii ale centrului respirator, poliomiелita care perturbă mișcările cutiei toracice, spasm laringian, atelectazii și fibroze extinse, astm sever, bronhopneumopatie cronică obstructivă. Același aspect se poate întâlni în spondilita ankilopoietică și în obezitatea excesivă care duce la hipoventilație accentuată (13).

Valorile normale ale PCO_2 și PO_2 sunt trecute în tabelul 8.3. alături de câteva exemple tipice de anomalii ale echilibrului acido-bazic.

Tabel 8.3.

Comportarea principalilor parametri ai echilibrului acido-bazic furnizați de analizorul de gaze AVL în diverse stări patologice. Exemple ilustrative.

		pH	PCO ₂ (mm Hg)	BE (mEq/l)*	BE _{ecf} ** (mEq/l)	BB (mEq/l)	HCO ₃ ⁻	PO ₂ (mm Hg)	O ₂ sat. %
Valori normale	arterial	7,38 - 7,45	35-42	-2,3; +2,3	-2,3; +2,3	45-48	24-26	80-100	94-100
	venos	7,34 - 7,42	40-49	-2,3; +2,3	-2,3; +2,3	46-49	25-27	20-40	60-85
Acidoză metabolică (sânge venos)	decompensată	7,251	28,6	-11,0	-12,3	35	12,2	55	86,5
	compensată	7,349	31,1	-7,1	-7,8	40,8	16,6	60	85
Acidoză respiratorie (sânge arterial)	decompensată	7,291	73	+6,4	+6,6	54,4	37,2	55	80
	compensată	7,344	75,6	+12,7	+14,6	60	40	65	85
Alcaloză metabolică (sânge arterial)	decompensată	7,610	35	+11,2	+10,3	54	34	90	94
	compensată								
mecanismele compensatorii sunt insuficiente									
Alcaloză respiratorie (sânge arterial)	decompensată	7,578	22	-3,5	-4,8	44	20	80	90
	compensată parțial	7,441	32,2	-0,7	-1,3	47	21	92	97

* Valorile HCO₃⁻ pot fi exprimate atât cu mmoli/l cât și cu mEq/l - întrucât HCO₃⁻ este monovalent.

** = BE în fluidele extracelulare

8.2.4. ALCALOZA RESPIRATORIE

Anomalia apare ca urmare a unei respirații accelerate și profunde care duce la scăderea PCO_2 . O astfel de hiperventilație este de cele mai multe ori consecutivă unei excitații puternice a centrului respirator cauzată de hipoxia survenită prin expunerea la o atmosferă rarefiată (la mari altitudini), de leziuni ale trunchiului cerebral și uneori ca o manifestare a unei crize de isterie.

Un oarecare grad de alcaloză respiratorie se constată în stări septice și în general în stări febrile evoluând cu o respirație accelerată și profundă.

Respirația artificială excesivă practică în serviciile de terapie intensivă, cuplată uneori cu perfuzii de bicarbonat, pot duce la o alcaloză extrem de severă în care componenta respiratorie și cea metabolică se sumează.

Ca în orice alcaloză, în astfel de cazuri se ajunge la o scădere a ionizării calciului, manifestările clinice consecutive variind de la senzația de furnicăături în degetele de la mâini și până la fenomene de tetanie severă.

Efortul compensator reprezentat de reducerea producerii de bicarbonați la nivelul tubilor renali are o eficiență limitată, organismul fiind adaptat mai degrabă pentru compensarea unei acidoze decât pentru contracararea unei alcaloze.

O situație oarecum particulară este furnizată de intoxicația cu salicilați. Inițial, o supradoză de salicilați tinde să producă o alcaloză respiratorie datorită stimulării directe a centrului respirator de către acești compuși. Pe de altă parte "decuplarea" fosforilării oxidative poate duce la acidoză lactică. În astfel de situații se poate ajunge fie la scăderea PCO_2 și creșterea pH (predominând alcaloza respiratorie) fie la scăderea pH (când predomină acidoza metabolică). Asocierea și alternarea diferitelor tipuri de perturbări ale echilibrului acido-bazic se pot întâlni și în alte situații. Așa de exemplu insuficiența hepatică însoțită de creșterea acidului lactic va favoriza dezvoltarea unei acidoze metabolice, dar hiperventilația produsă de excitarea centrului respirator de către diverse toxine reținute în circulația ciroticului poate duce la alcaloză respiratorie. Asocierea unei acidocetoze diabetice cu o insuficiență renală sau cu o pneumopatie este de asemenea o posibilitate de care trebuie ținut seama. Din aceste motive, oricât de perfecționate ar fi tehnicile de investigare a echilibrului acido-bazic, interpretarea rezultatelor trebuie făcută în context cu alte analize și întotdeauna în lumina datelor clinice.

8.3. EXPLORAREA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Întrucât puncția arterială este mai neplăcută pentru pacient, explorarea echilibrului acido-bazic se poate efectua în majoritatea cazurilor și din sânge venos. Indicații pentru explorări din sângele arterial pot fi deci limitate doar la câteva situații și anume:

- a. dacă este necesară evaluarea PO_2 . În acest caz din proba de sânge arterial se vor explora și variabilele echilibrului acido-bazic;
- b. dacă se bănuiește existența unor anomalii complexe respiratorii și metabolice;
- c. dacă bolnavul este respirat artificial;
- d. dacă se bănuiește o exacerbare acută a unei boli pulmonare cronice.

Determinările separate de pH și de bicarbonați (așa-zisa rezervă alcalină) sunt astăzi depășite grație introducerii unor analizoare automate care asigură măsurarea "in vitro" a pH precum și a presiunilor parțiale de oxigen (PO_2) și de dioxid de carbon (PCO_2). Pornind de la acești parametri mășurați și de la presiunea atmosferică, analizorul calculează și alți parametri și anume:

Bazele exces (BE) reprezintă cantitatea de acizi sau de baze care ar putea restabili echilibrul acido-bazic într-un litru de sânge la un PCO_2 de 40 mm Hg. Este evident că această valoare va fi negativă într-o acidoză metabolică și pozitivă într-o alcaloză metabolică, oscilând la normali între +2,3 și -2,3 mmoli/l (sau mEq/l). De precizat că BE evaluează doar componenta metabolică a unui dezechilibru acido-bazic.

Bazele tampon (BB) reprezintă suma anionilor tampon din sânge (proteine-, bicarbonați-, hemoglobină-) care pot accepta H^+ . Pentru un conținut de hemoglobină de 15 g/dl, valoarea normală a acestei variabile este de 47 mmoli/l.

Bicarbonatul actual (HCO_3^-) reprezintă conținutul de bicarbonați din sângele circulant al bolnavului la PCO_2 actuală, iar valorile normale oscilează între 24-27 mmoli/l. Aceste valori adăugate la cele măsurate direct, adică pH, PCO_2 și PO_2 , la care se adaugă prin calculare automată saturația în oxigen (O_2 Sat) sunt de regulă suficiente pentru interpretarea echilibrului acido-bazic și a gazelor din sânge, în lumina datelor clinice (vezi tabel 8.3).

La solicitări analizorul mai furnizează parametri adiționali cum sunt:

Conținutul total de CO_2 (TCO_2) o sumă a bicarbonatului actual adunat cu produsul între PCO_2 și factorul 0,03.

Bicarbonatul standard (st HCO_3^-) reprezentând conținutul de bicarbonați al sângelui dacă PCO_2 ar fi de 40 mm Hg.

Evident, în condiții normale, bicarbonatul standard va fi egal cu bicarbonatul actual. Creșterea HCO_3^- actual, pe lângă valori normale ale st HCO_3^- indică o reacție compensatorie într-o acidoză respiratorie, iar scăderea HCO_3^- actual față de valoarea st HCO_3^- este o caracteristică a reacțiilor compensatorii într-o alcaloză respiratorie. De notat că o reacție compensatorie nu înseamnă și o compensare izbită.

pH standard (st pH) indică valoarea pH dacă PCO_2 ar fi de 40 mm Hg. Prin compararea acestei valori cu valoarea de pH actual se poate evalua dacă anomaliile echilibrului acido-bazic sunt condiționate predominant metabolic sau prin mecanism respirator.

Concentrația ionilor de hidrogen (cH^+) redă această valoare exprimată ca mmoli/l.

Gradientul alveolar/arterial al oxigenului ($AaDO_2$) prezintă utilitate pentru studiul procesului de hematoză, adică de difuzare a O_2 din alveole în sânge.

Un aparat capabil să furnizeze toți acești parametri este analizorul de gaze AVL 995 furnizat de firma AVL- Austria și având reprezentanța în Cluj (DG Instrumente științifice SRL).

Se recomandă ca explorarea echilibrului acido-bazic să fie întregită cu dozarea concentrației serice a potasiului, avându-se în vedere interrelațiile dintre economia potasiului și echilibrul acido-bazic.

Este de asemenea utilă calcularea lacunei anionice (anion gap) care reprezintă diferența între concentrația cationilor de sodiu și suma concentrațiilor anionilor de bicarbonat și de clor. Lacuna anionică prezintă valori normale medii de 10 mEq/l, cu oscilații admise între 7 și 15 mEq/l. (De exemplu $Na = 140$ mEq/l; $HCO_3^- = 26$ mEq/l; $Cl^- = 100$ mEq/l; Lacuna anionică = $140 - (26 + 100) = 14$). O lacună anionică mai mare de 15 mEq/l indică prezența unui exces de anioni cum sunt acidul lactic sau corpii cetonici și este sugestivă pentru o acidoză metabolică (4,7,11). De notat însă că în cazurile de acidoză hiperloremică (de ex. într-o acidoză tubulară renală) lacuna anionică nu este modificată. După experiența noastră calcularea lacunei anionice nu oferă un avantaj major față de simpla dozare a bicarbonaților.

Evaluarea efortului de compensare a unui dezechilibru acido-bazic, orientează asupra intrării

în acțiune a mecanismelor de corecție, iar acestea depind de tipul dezechilibrului. Ca urmare, calcularea efortului compensator diferă în funcție de acest tip. Astfel într-o **acidoză metabolică**, scăderea compensatorie a PCO_2 ar trebui să fie aproximativ egală cu produsul între scăderea față de normal a bicarbonatului actual și factorul 1,3 (de ex. bicarbonat normal 25 mmoli/l; bicarbonatul pacientului 12 mmoli/l; PCO_2 arterial normal 40 mm Hg; PCO_2 al pacientului 24 mm Hg; $25 - 12 = 13$; $13 \times 1,3 = 16,9$; $40 - 24 = 16$. Deci efortul compensator este în sens adecvat, iar acidoza metabolică nu este complicată de o insuficiență respiratorie.

În cazul unei **alcaloze metabolice**, creșterea compensatorie a PCO_2 ar trebuie să fie egală cu produsul dintre creșterea față de normal a bicarbonaților și factorul 0,6 (de ex. bolnavul prezintă $\text{HCO}_3^- = 35$ mmoli/l; $\text{PCO}_2 = 44$ mm Hg în sângele arterial; $35 - 25 = 10$; $10 \times 0,6 = 6$; $44 - 40 = 4$; $6 > 4$. Deci efortul compensator nu este adecvat. Pentru o compensare adecvată PCO_2 ar fi trebuit să ajungă la 46 mm Hg.

Compensarea unei **acidoze respiratorii acute** decurge în sens adecvat dacă pentru fiecare creștere cu 10 mm Hg a PCO_2 peste valoarea normală, se ajunge la o creștere a HCO_3^- cu 1 mmol/l.

În **acidozele respiratorii cronice** un efort compensator în sens adecvat ar trebui să producă o creștere a HCO_3^- de 4 mmol/l pentru fiecare creștere de 10 mmHg a PCO_2 peste valoarea normală (de ex. : PCO_2 65 mm Hg, $\text{HCO}_3^- = 34$ mmol; $65 - 40 = 25$; $25 : 10 = 2,5$; $2,5 \times 4 = 10$ mEq/l; $34 - 25 = 9$ mEq/l.

Întrucât creșterea actuală a HCO_3^- cu 9 mEq/l este apropiată de valoarea creșterii calculate de 10 mEq/l se consideră că efortul compensator decurge în sens adecvat.

Efortul compensator într-o **alcaloză respiratorie acută** ar implica o scădere cu 2 mEq/l a HCO_3^- pentru fiecare scădere cu 10 mm Hg a PCO_2 .

În cazul unei **alcaloze respiratorii cronice** efortul compensator necesită o scădere cu 5 mEq/l a HCO_3^- pentru fiecare scădere cu 10 mm Hg a PCO_2 .

De subliniat că detectarea unui efort compensator în sens adecvat, nu înseamnă și o compensare eficientă. De fapt o compensare eficientă înseamnă o menținere a valorilor de pH în limite normale.

8.4. PRINCIPII DE TERAPIE ÎN ANOMALIILE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

În principiu, corectarea echilibrului acido-bazic se efectuează în funcție de etiologie și de mecanismul de producere a anomaliei. Astfel într-o **acidoză metabolică** se va acționa în primul rând asupra cauzei care a dus la acidoză tratându-se diabetul zaharat sau insuficiența renală. În acidozele metabolice severe, se va interveni însă de urgență cu o terapie de echilibrare, administrându-se bicarbonați, având totodată grijă, ca în caz de insuficiență renală, să nu se ajungă la o supraîncărcare a aparatului circulator.

Se consideră că pentru **corectarea unei acidoze metabolice**, afectând de regulă toate compartimentele fluidelor din organism, este nevoie să se administreze o cantitate de baze (bicarbonat) egală cu produsul dintre jumătatea greutății corporale în kg și excesul de bază (de fapt deficitul de baze). De exemplu, în cazul unui subiect de 60 kg cu acidoză diabetică și o valoare exces baze (EB) de -10 mEq/l se vor administra 30×10 mEq/l, respectiv 300 mEq bicarbonat (25,5 g bicarbonat de sodiu). Cu excepția unei acidoze deosebit de severe, este mai bine să se administreze doar jumătate din cantitatea indicată de calcul și să se determine din nou variabilele echilibrului acido-bazic, urmând ca ulterior să se efectueze o nouă

corecție.

Nu trebuie uitat că anomaliile echilibrului acido-bazic survin în cadrul unor perturbări hidroelectrolitice complexe care afectează volumul și osmolaritatea lichidelor din organism. Ca urmare, terapia se va adresa și corectării acestor perturbări. Așa de exemplu, alcaloza metabolică din stenoza pilorică răspunde favorabil la creșterea volumului extracelular (infuzii intravenoase de NaCl) care oprește secreția crescută de aldosteron. Întrucât alcalozele duc la o depleție de potasiu se va corecta și hipopotasemia. De notat că, în cazurile în care alcaloza extracelulară este consecutivă deficitului de potasiu, echilibrul acido-bazic se corectează doar după administrarea de potasiu.

Este important de știut că, în cursul terapiei cu glucoză și insulină a unei acidocetozе diabetice, se poate instala o hipopotasemie. De fapt, în perioada deficitului de insulină și a poliuriei cauzată de diureza osmotică consecutivă glicozuriei masive se ajunge la depleție de potasiu. Acest deficit este însă mascat de hipovolemie și de acidoză, astfel încât în această perioadă potasemia poate fi crescută. Hipopotasemia devine evidentă abia atunci când în urma terapiei cu glucoză și insulină se produce o reintrare a potasiului în celule, împreună cu glucoza, iar prin administrarea de fluide se corectează hipovolemia.

În cazul **bolilor pulmonare**, evoluând cu acidoză respiratorie se va încerca în primul rând ameliorarea funcțiilor respiratorii prin expectorante, mucolitice și antibiotice, iar în caz de hipoxie se va recurge la oxigenoterapie. Este însă important de reamintit că bolnavii cu bronhopneumopatie obstructivă, hipoxia exercită un efect stimulator asupra centrului respirator și că astfel, prin creșterea efortului de ventilație, se limitează creșterile excesive de PCO_2 . Restabilirea rapidă a PO_2 prin oxigenoterapie la valori normale, reduce excitabilitatea centrului respirator, reducând ventilația, astfel încât se poate ajunge la creșteri bruște și periculoase ale PCO_2 care nu au timp să fie compensate prin mecanism renal, respectiv prin creșterea compensatorie a bicarbonaților. Aceste mecanisme pot duce astfel la o scădere marcată a valorilor pH. La aceasta contribuie și faptul că oxihemoglobina este un tampon mai puțin eficient decât hemoglobina redusă. Ca urmare, se recomandă ca, în cursul terapiei cu oxigen ale acestor bolnavi, să se ajunga la valori ale PO_2 cu doar puțin peste 60 mm Hg (8 kPa). În acest fel se asigură o menținere a efortului respirator, respectiv o eliminare de CO_2 și totodată o oxigenare relativ mai bună a țesuturilor.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Astrup P., Jorgensen K., Siggaard Andersen O., Engel K. The acid base metabolism. A new approach. *Lancet* 1960, 1: 1035-1036.
2. Blair E. Acid-base balance in bacteremic shock. *Arch. Intern. Med.*, 1971, 127: 731-739.
3. Coen G., Manni M., Addari O., Ballanti P., Pasquali M., Chioca S., Mazzaferro S., Napoletano I., Sardella D., Bonucci E. Metabolic acidosis and osteodystrophic bone disease in predialysis chronic renal failure: effect of calcitriol treatment. *Mineral and Electrolyte Metabolism* 1995, 21: 375-382.
4. Emmett M., Narins R.G. Clinical use of the anion gap. *Medicine*, 1977, 56: 38-54.
5. Ganong W.F. Review of Medical Physiology. Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1971.
6. Harper H.A. Review of Physiological Chemistry. 14th Edition. Lange Medical Publications. Los Altos, California 1973.
7. Kellum J.A., Kramer D.J., Pinsky M.R. Strong ion gap: a methodology for exploring unexplained anions. *J. Critical Care* 1995, 10: 51-55.
8. Kraut J.A. The role of metabolic acidosis in the pathogenesis of renal osteodystrophy (Review)

- Advances in Renal Replacement Therapy, 1995, 2: 40-51.
9. Narins R.G., Emmett M. Simple and mixed acid-base disorders: a practical approach. *Medicine*, 1980, 59: 161-187.
 10. Park R., Arieff A.I. Lactic acidosis *Adv.Int.Med.*, 1980, 25: 33-68.
 11. Rutecki G.W., Whittier F.C. Acid-base interpretation: five rules and how they help in every day cases. *Consultant* 1991, 31: 44-59.
 12. Sherwin J.E., Bruegger B.B. Acid-base control and acid-base disorders. In Kaplan and Pesce (Editors). *Clinical Chemistry* C.V.Mosby Company. St.Louis, Toronto, Princeton, 1984, pp.387-402.
 13. Wagner P.D. Diffusion and chemical reaction in pulmonary gas exchange. *Physiol. Reviews*, 1977, 57: 257-312.
 14. Zander R. Lebermetabolismus und Saure-basen Haushalt. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin Schmerztherapie* 1995, 30, suppl. 1: 48-51.
 15. Zilva J.F. The origin of acidosis in hyperlactatemia. *Ann.Clin. Biochem.* 1978, 15: 40-43.
 16. Zilva J.E. Disorders involving changes in hydrogen ion and blood gas concentrations. In Williams and Marks (Editors). *Biochemistry in clinical practice*. William Heineman Medical Books LTD. London 1983, 24-43.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Anhidraza carbonică este o enzimă aflată în:
 - A. Eritrocite
 - B. Celulele tubulilor renali
 - C. Celulele parietale ale mucoasei gastrice
 - D. În toate aceste celule
2. În comparație cu oxihemoglobina, hemoglobina redusă este un acid:
 - A. Mai puternic
 - B. Mai slab
 - C. Are o constantă de disociere identică
 - D. Are un caracter neutru
3. În care din situațiile de mai jos nu survine o asociere a acidozei cu hipopotasemia:
 - A. Diarei profuze și prelungite
 - B. Tratament cu acetazolamidă
 - C. Acidoză tubulară renală
 - D. Acidoză respiratorie decompensată.
4. Stabiliți corespondența între tipurile de dereglare a echilibrului acido-bazic și bolile în care se pot întâlni:

<ol style="list-style-type: none"> A. Acidoză respiratorie B. Acidoză metabolică C. Alcaloză respiratorie D. Alcaloză metabolică 	<ol style="list-style-type: none"> I. Diabet zaharat cu cetonemie II. Bronhopneumopatie cronică obstructivă III. Stenoză pilorică IV. Afecțiuni cerebrale evoluând cu polipnee
--	--

5. Hipopotasemia poate fi:

- A. O cauză a alcalozei extracelulare
- B. O consecință a unei alcaloze prelungite
- C. Ambele sunt posibile
- D. Nu există interrelații între echilibrul acido-bazic și economia potasiului.

6. Deficitul sever de potasiu poate determina alcaloză extracelulară, acidoză tisulară și acidurie paradoxală prin următoarele mecanisme:

- A. În lipsa competiției exercitate de K^+ la nivelul tubilor renali se elimină mai mult H^+ și ca urmare crește reabsorbția de bicarbonați
- B. Scăderea K^+ în celule duce la o pătrundere de H^+ în celulele organismului
- C. Ambele mecanisme contribuie la explicarea anomaliilor survenite în echilibrul acido-bazic al subiecților cu depleția de potasiu
- D. Nu există încă o explicație plauzibilă.

7. Stabiliți corespondența între reacțiile compensatorii și tipul de dezechilibru acido-bazic în care survin:

A. Creșterea eliminării de CO_2 pe cale respiratorie

I. Acidoză respiratorie (Bronhopneumopatie cronică obstructivă)

B. Creșterea eliminării de H^+ prin urină și reabsorbția crescută a bicarbonaților

II. Acidoză metabolică (acidocetoză diabetică)

C. Scăderea eliminării urinare a H^+ , reducerea formării de bicarbonați, eliminări urinare de bicarbonați

III. Alcaloză respiratorie (leziuni ale trunchiului cerebral)

D. Diminuarea eliminărilor de CO_2 (Mecanism limitat și de regulă inefficient)

IV. Alcaloză metabolică (Stenoză pilorică)

8. Care din procesele de mai jos nu poate fi incriminat în patogeniza perturbărilor hidroelectrolitice survenite la bolnavii cu stenoză pilorică:

- A. Scăderea volumului extracelulare și implicit scăderea filtrării la nivelul glomerular.
- B. Refluarea sucului duodenal în stomac și pierderea de bicarbonați prin vărsături
- C. Creșterea secreției de aldosteron și deperdiția de potasiu.
- D. Creșterea secreției de H^+ la nivelul tubilor renali și implicit a resorbției de bicarbonați.

9. Bolnav de 40 ani cu dispnee și cianoză. În sângele arterial:

pH = 7,291; PCO_2 = 73; BE = +6,4; BE_{ecf.} = +7,3; BB = 54,4; HCO_3^- = 35,2; PO_2 = 55; O_2 sat. = 85,5%.

- a. cum definiți starea echilibrului acido-bazic în acest caz ?
- b. în ce boli se poate întâlni o astfel de situație ?
- c. cum ar trebui să fie potasiul seric și de ce ?
- d. cum se manifestă pe acest buletin de analiză efortul compensator și prin ce mecanism se încearcă compensarea ?
- e. credeți că ar fi indicată dozarea de alfa₁ antitripsină în acest caz ? De ce ?

10. Băiat de 13 ani cu poliurie. În sângele venos $\text{pH} = 7,251$; $\text{PCO}_2 = 28,6$; $\text{BE} = -11$; $\text{BE}_{\text{ecf.}} = -11,3$; $\text{BB} = 35\%$; $\text{HCO}_3^- = 12,2$; $\text{PO}_2 = 55$; $\text{O}_2\text{sat} = 80,5$.

- cum definiți starea echilibrului acido-bazic în acest caz ?
- în ce boli se poate întâlni o astfel de situație ?
- comentați posibila comportare a nivelului potasiului seric în acest caz !
- cum se manifestă pe acest buletin efortul de compensare ?

11. În acidoza metabolică din diabetul zaharat cu acidocetoză survine o scădere a bicarbonaților, deoarece are loc o producție crescută de acid acetilacetic și acid beta hidroxibutiric.

12. În acidoza respiratorie se constată o creștere marcată a PCO_2 deoarece deficitul funcțional al tubilor renali distali perturbă eliminările de H^+ și generarea de bicarbonați.

13. Acidoza respiratorie decompensată se însoțește de hipopotasemie deoarece între eliminările de K și H există o competiție la nivelul tubilor renali.

14. Diareile severe ajung să producă hipopotasemie deoarece scăderea volumului lichidului extracelular deprimă secreția de aldosteron.

Cheia pentru întrebările 11, 12, 13, 14:

- Ambele afirmații sunt corecte și legate cauzal
- Ambele afirmații sunt corecte dar nelegate cauzal
- Prima afirmație corectă, a doua incorectă
- Prima afirmație incorectă, a doua corectă
- Ambele afirmații sunt incorecte.

9. ANOMALIILE ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Activitatea celulelor, inclusiv procesele enzimatice, au loc în mediu apos și depind de anumite particularități ale fluidelor în care aceste activități se desfășoară. Organismul posedă o serie de mecanisme care asigură menținerea cât mai constantă a caracteristicilor "mediului intern". Între aceste caracteristici sunt de menționat:

- a. presiunea osmotică;
- b. concentrația ionilor de hidrogen (vezi capitolul 8);
- c. conținutul absolut și selectiv de cationi;
- d. conținutul cantitativ și calitativ de coloizi (vezi capitolul 2);
- e. temperatura.

La acestea se mai adaugă mecanismele care reglează volumul lichidelor din organism și necesitatea unui aport permanent de substanțe nutritive, alături de posibilitatea îndepărtării continue din mediul intern a produșilor de degradare (2,8,9).

Perturbările echilibrului hidroelectrolitic reprezintă adeseori stări de urgență, iar aplicarea unor măsuri terapeutice corecte depinde de înțelegerea fiziopatologiei acestor perturbări, care pot interesa cu predominanță fie apa, fie diverșii electroliți (2).

9.1. APA DIN ORGANISM ȘI DISTRIBUȚIA EI ÎN DIFERITE COMPARTIMENTE

Apa îndeplinește o serie de condiții necesare unei bune desfășurări a proceselor biologice, fiind cel mai bun solvent, și având constantă dielectrică mare, ceea ce favorizează disociația electrolitică; totodată având o căldură specifică mare, poate înmagazina și transporta, în volume mici, mari cantități de energie calorică, fără a-și modifica prea mult temperatura. Pe lângă aceste efecte bine cunoscute, mai trebuie amintit că apa asigură plasticitatea conținutului intestinal, ușurând tranzitul și expulzarea materiilor fecale. Totodată, evaporarea apei, la nivelul tegumentelor și mucoaselor, asigură un mecanism de răcorire a corpului, într-un mediu cu temperatură ridicată.

Apa constituie aproximativ 65% din greutatea corporală a unui bărbat și în jur de 55% din greutatea corporală a unei femei, dar există mari variații între indivizi, conținutul în apă fiind invers proporțional cu grăsimea corpului.

Distribuția apei în organism este prezentată în tabelul 9.1.

Tabel 9.1.

Distribuția apei în organismul unui bărbat tânăr.
După Harper (9) completat

Sector	ml/kg greutate corporală	% din apa totală
Apa intracelulară	330	55,0
Apa extracelulară din care:	270	45,0
plasmă	45	7,5
lichid interstițial și limfă	120	20
apa din țesut conjunctiv și cartilagii	45	7,5
apa din vase	45	7,5
apa transcelulară*	15	2,5

* - Prin termenul de apă transcelulară se înțelege apa din compartimentele extracelulare, care se află mărginită de membranele celulelor epiteliale și al cărei volum și compoziție este determinată de activitatea celulelor respective. Compartimentele apei transcelulare sunt heterogene în privința compoziției și includ umoarea apoasă a ochiului, lichidul cerebrospinal, precum și fluidele din tractul gastrointestinal, genitourinar și nazorespirator.

9.1.1. DETERMINAREA VOLUMELOR DE APĂ DIN DIVERSELE COMPARTIMENTE

Cea mai răspândită metodă pentru determinarea volumului unui anumit compartiment se bazează pe principiul "diluției unui indicator", respectiv pe măsurarea concentrației unei substanțe adecvate (indicator) care, administrată în cantitate cunoscută, se dizolvă și se repartizează uniform în compartimentul respectiv. Matematic acest procedeu se exprimă astfel:

$$\text{Vol. compart.} = \frac{\text{cantitatea de indicator administrată}}{\text{concentrația indicatorului din compartiment}}$$

Apa totală se poate măsura în funcție de diluția suferită de unele substanțe, care, injectată intravenos, se răspândește rapid și uniform în toate compartimentele organismului. Se pot utiliza în acest scop izotopi ai apei ca oxidul de deuteriu sau oxidul de tritiu, precum și antipirina sau N-acetilaminopirina.

Volumul lichidului extracelular (VLE) poate fi aflat pe baza diluției suferite de o substanță indicator, care, administrată intravenos, nu pătrunde în celule, dar se răspândește rapid și uniform în lichidul extracelular.

Nu s-a găsit încă o substanță ideală sub acest aspect, dar se pot obține evaluări suficient de exacte, utilizându-se zaharide (inulină, rafinoză, manitol) sau diverși ioni (radiosulfat, tiosulfat, clorură de sodiu marcată fie la Cl^- , fie la Na^+). De notat că, în funcție de indicatorul folosit, se obțin variații ale datelor referitoare la volumul apei extracelulare. Aceste diferențe se datorează în primul rând gradului diferit de difuzare a substanței indicator în lichidul interstițial din țesutul conjunctiv dens, din cartilagii, din

oase, precum și în apa transecelulară (diverse secreții). Așa de exemplu valoarea VLE apare mai redusă, în cazul utilizării inulinei, decât atunci când se utilizează tiocianat sau clorură de sodiu (cu Cl^- marcat).

Volumul plasmiei se măsoară cu ajutorul unei substanțe macromoleculare (albumină marcată cu ^{125}I) sau care se fixează pe albumină (de ex. Albastru Evans) și care, injectate intravenos sunt reținute mai mult timp în arborele circulator.

Volumul apei intracelulare se obține prin diferența între volumul apei totale și volumul lichidului extracelular, iar volumul lichidului interstițial ar putea fi estimat, în principiu, prin diferența între volumul lichidului extracelular (VLE) și volumul plasmiei (8,9,11,17).

9.2. ELECTROLIȚII DIN ORGANISM ȘI DISTRIBUȚIA LOR ÎN DIFERITELE COMPARTIMENTE

Pentru evaluarea echilibrului hidroelectrolitic este important ca electroliții (ionii) să fie exprimați în unități identice, care să țină cont de sarcina electrică, de activitatea osmotică și de reactivitatea chimică. Ca urmare se folosesc exprimările sub formă de miliechivalenți la litru (mEq/l). Un mEq reprezintă greutatea moleculară (sau atomică) împărțită la valență.

În tabelul 9.2 sunt trecute valorile, în mEq/l, ale principalilor electroliți din compartimentele lichidiene ale corpului. Așa cum reiese din acest tabel, compoziția lichidului interstițial este similară cu cea a plasmiei, cu singura deosebire că în privința anionilor, proteinele sunt, în mare parte, înlocuite cu ionul Cl^- . Pe de altă parte, compoziția lichidului intracelular diferă, în mod evident de cea a plasmiei, celulele fiind mult mai bogate în potasiu, magneziu și fosfați și mult mai sărace în Cl^- și Na^+ (8,9).

Conform recomandărilor S.I. concentrația electroliților s-ar exprima mai adecvat sub formă de mmoli/l. În cazul ionilor monovalenți (Na^+ , K^+ , Cl^-) $1 \text{ mmol} = 1 \text{ mEq}$, dar în cazul ionilor bivalenți (Ca^{2+} , Mg^{2+}) $1 \text{ mmol} = 2 \text{ mEq}$.

9.3. PRESIUNEA OSMOTICĂ ȘI OSMOLARITATEA FLUIDELOR DIN ORGANISM

Presiunea osmotică este un factor determinant în distribuirea apei între diversele compartimente lichidiene ale organismului. Dacă o membrană permeabilă pentru apă, dar impermeabilă pentru substanțe solvite în apă, este plasată între două compartimente de lichide, având concentrații diferite de substanță solvită, apa se va deplasa din compartimentul cu concentrație mai joasă (cu relativ mai multă apă) spre compartimentul cu concentrație mai ridicată (adică spre cel cu relativ mai puțină apă). Această mișcare a apei se numește **osmoză**, iar forța de atracție astfel exercitată constituie **presiunea osmotică**. Teoretic, presiunea osmotică a unei soluții este proporțională cu numărul de particule solvite pe unitatea de volum a soluției, iar particulele dizolvate, de care depinde presiunea osmotică se numesc osmoli. În cazul substanțelor neionice solvite (de exemplu glucoza sau ureea) $1 \text{ mol} = 1 \text{ osmol}$, dar pentru moleculele care disociază electrolitic, fiecare ion reprezintă un osmol. De exemplu un mol de NaCl va fi egal cu doi osmoli.

Tabel 9.2.
Compoziția în electroliți a plasmă și a lichidului interstițial în comparație cu cea a lichidului intracelular. Exprimare în mEq/l. După datele din literatură (11) modificat.

	Plasmă	Lichid interstițial	Lichid intracelular**
Na ⁺	142	145	10
K ⁺	4	4	156
Ca ²⁺	5*	2-3	3,2
Mg ²⁺	2*	1-2	26
Total cationi	153	153	195
Cl ⁻	103	116	2
HCO ₃ ⁻	28	31	8
Proteine	17	-	55
Alți anioni	5	6	130
Total anioni	153	153	195
Total electroliți	306	306	390***
Osmolaritate	292 (282-300)****	294,6****	294,6****

* Aproximativ jumătate din calciul plasmatic și cam un sfert din magneziul plasmatic se găsește sub formă legată de proteine (neionizată și nedifuzibilă)

** Compoziția lichidului intracelular variază de la țesut la țesut. De exemplu K este mai scăzut în hematii decât în musculatură, pe când Cl⁻ practic nul în musculatură, poate totuși pătrunde în hematii.

*** Suma anionilor și cationilor din celule depășește pe cea din plasmă sau din lichidul interstițial, dar o bună parte a acestor electroliți este inactivă osmotice fiind legată de proteine sub formă nedisociată.

**** Valorile osmolarității în mmoli este cu ceva mai redusă decât cea obținută prin calcul (suma anionilor și cationilor), datorită interacțiunii dintre ioni (precum și prezenței proteinelor care reduc activitatea osmotică a unor electroliți. Variații ale valorilor osmolarității plasmă se datorează tocmai diferențelor în conținutul de proteine al mostrelor examinate.

Osmolaritatea este o măsură a numărului total de particule solvite pe unitatea de volum a soluției. Astfel conform calculului, osmolaritatea dată de electroliții plasmă s-ar situa cu ceva peste 300 miliosmoli/l (vezi tabel 9.2). De notat că în condiții normale, presiunea

osmotică exercitată de uree și glucoză este neglijabilă (aproximativ câte 5 miliosmoli pentru fiecare din aceste substanțe organice). Aceasta de datorează nu numai numărului relativ redus de particule osmotice active date de glucoză și uree cât și faptului că membranele celulare sunt mult mai permeabile pentru acești metaboliți decât pentru Cl sau Na. Din acest motiv **presiunea osmotică efectivă** (în mm Hg), cu importanță "in vivo" este dată mai ales de acele substanțe solvite pentru care permeabilitatea membranei este cea mai redusă.

Osmolaritatea serului poate fi măsurată în funcție de scăderea punctului său de congelare sub cel al apei distilate (punct erioscopic). S-a stabilit că punctul erioscopic scade cu $0,01^{\circ}\text{C}$ pentru fiecare 5,4 miliosmoli. Cu osmometrele moderne care stabilesc osmolaritatea în decurs de câteva minute, valorile normale obținute în ser oscilează între 282-298 miliosmoli, fiind cu ceva mai reduse decât cele obținute prin calcul (suma anionilor și cationilor în mEq/l). Astfel de diferențe își găsesc explicația prin interacțiunea dintre ioni și prin reducerea activității osmotice a unor electroliți în prezența proteinelor serice.

În majoritatea cazurilor și, bineînțeles, în absența unei hiperglicemii sau a unei retenții azotate importante, osmolaritatea = $2,1 \times$ concentrația Na serie în mEq/l.

În caz de azotemie marcată, se poate calcula numărul de miliosmoli/l dați de uree, împărțindu-se concentrația ureei în mg/l la 60 (greutatea moleculară a ureei); în mod similar numărul de miliosmoli/l, dați de glucoză se obține împărțind glicemia în mg/l la 180 (greutatea moleculară a glucozei). Scăzând numărul de miliosmoli dați de uree și glucoză din valoarea osmolarității determinată erioscopic se obține numărul de miliosmoli dați de electroliții principali și reprezintă osmolaritatea efectivă in vivo.

Întrucât sumele electroliților din plasmă și lichidul interstițial sunt practic identice, rezultă că proteinele asigură diferența de presiune osmotică dintre plasmă și lichidul interstițial. Cu alte cuvinte, între aceste două sectoare, presiunea osmotică efectivă este dată de presiunea coloidosmotică (2,11,17). De notat că endoteliul este relativ impermeabil pentru proteine (coloizi) dar permeabil pentru electroliți și micromolecule.

9.4. SCHIMBURILE DE APĂ ȘI ELECTROLIȚI ÎNTRE DIVERSELE COMPARTIMENTE ALE ORGANISMULUI

Aceste schimburi sunt selective și decurg după anumite reguli. Astfel apa radioactivă (apa grea) injectată intravenos se repartizează uniform între sânge și lichidul interstițial deja după 30 de secunde, dar trecerea prin membrana celulară și echilibrarea cu apa intracelulară se realizează abia după 120 minute. Când se injectează intravenos sodiu radioactiv, echilibrul cu sodiul interstițial se petrece în decurs de 60 minute, dar echilibrarea cu sodiul total se atinge abia după 24 de ore. Potasiul radioactiv necesită 25 de ore pentru a se echilibra cu potasiul celular.

Din cele relatate mai sus rezultă că mecanismele care asigură schimburile dintre plasmă și lichidul interstițial și între acesta din urmă și lichidul intracelular sunt diferite și ca atare trebuie abordate în mod diferențiat.

9.4.1. SCHIMBURILE DE APĂ ȘI ELECTROLIȚI ÎNTRE PLASMĂ ȘI LICHIDUL INTERSTIȚIAL

Aceste schimburi nu au loc la nivelul capilarelor și sunt influențate de următorii factori:

- a. presiunea hidrostatică a sângelui în capilare;
- b. permeabilitatea capilară;

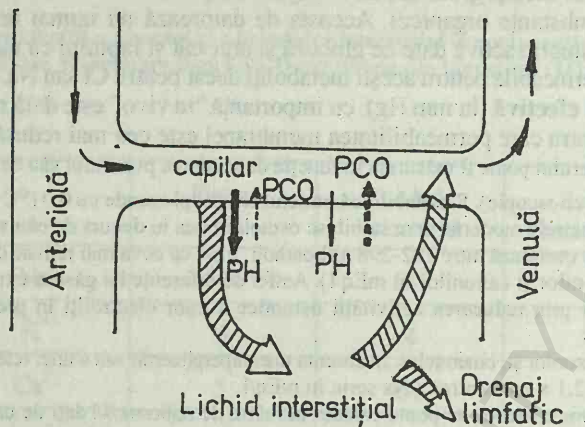


Fig. 9.1. Reprezentare schematică a principalilor factori care determină schimburile între plasmă și lichidul interstițial. PH - presiune hidrostatică; PCO - presiune coloidosmotică. Grosimea săgeților corespunde mărimii relative a PH (săgeata plină) și a PCO (săgeată întreruptă). Săgețile hașurate indică direcția transferului de lichid.

- c. diferențele între presiunea osmotică a plasmelor și cea din lichidul interstițial (date în primul rând de presiunea coloidosmotică);
- d. drenajul limfatic;
- e. tensiunea în țesuturi.

Endoteliul capilarelor se prezintă ca un tub continuu, prevăzut însă cu numeroase canale intercelulare de 4-5 nm. În acest fel endoteliul capilarelor este permeabil pentru apă și substanțe micromoleculare (implicit pentru electroliți) fiind însă relativ impermeabil pentru proteine. În ansa arterială a capilarelor, gradientul de presiune hidrostatică între plasmă și lichidul interstițial este în medie de 32 mm Hg, ceea ce depășește presiunea coloidosmotică a plasmelor de la acest nivel (aproximativ 22 mm Hg). Ca urmare apa și substanțele micromoleculare din plasmă difuzează spre lichidul interstițial, care, și în condiții fiziologice conține cam 0,1 g proteine/100 ml (o concentrație mult scăzută față de cea a plasmelor de 6-8 g/100 ml). Pe măsură ce plasma se deplasează de-a lungul capilarului, presiunea hidrostatică scade, iar concentrația de proteine (și implicit presiunea coloidosmotică) din interiorul capilarelor crește, astfel încât la nivelul ansei venoase a capilarului, presiunea hidrostatică ajunge la 12 mm Hg, iar cea coloidosmotică din capilare devine în jur de 26-28 mm Hg. Se creează deci condiții ca, la acest nivel, o bună parte a lichidului filtrat să fie reabsorbit în interiorul capilarului sanguin.

Întrucât, în ansamblu, filtrarea depășește totuși reabsorbția, excesul de apă și de electroliți din interstițiu, împreună cu proteinele scăpate în acest lichid, se reintorc în circulație prin drenajul limfatic (vezi fig. 9.1).

În anumite părți ale corpului, ca de exemplu palmele mâinilor și musculatură, lichidul interstițial este supus unei tensiuni relativ crescute, din cauza aranjamentului spațial al țesutului conjunctiv, astfel încât acumulările de lichid sunt de regulă prevenite în aceste țesuturi. În schimb, textura laxă a țesutului conjunctiv al pleoapelor și gleznelor, favorizează creșterile de volum ale lichidului interstițial și deci formarea edemelor.

De menționat că exemplificările numerice referitoare la presiunea hidrostatică și cea coloidosmotică, arătate mai sus, nu se aplică la toate țesuturile organismului. Așa de exemplu la

nivelul ficatului și măduvei osoase, endoteliile capilarelor, lasă între ele spații prin care conținutul plasmei, inclusiv proteinele plasmatică vin în contact direct cu celulele parenchimelor (17).

9.4.2. SCHIMBURILE DINTRE LICHIDUL INTERSTIȚIAL ȘI LICHIDUL INTRACELULAR

Astfel de schimburi depind de integritatea membranei celulare, precum și de forțe osmotice și electrochimice, iar la rândul lor acești factori depind de metabolismul celulelor.

Membranele lipoidice ale celulelor sunt prevăzute cu numeroși pori, având diametre de aproximativ 0,7 nm, care permit schimburile de apă cu lichidul extracelular. Ca urmare, modificări ale osmolarității lichidului interstițial se vor repercuta asupra conținutului în apă și respectiv a volumului celulelor, acestea crescând în caz de hipotonie osmotică și scăzând în caz de creștere a osmolarității lichidului interstițial.

Permeabilitatea membranelor celulare pentru electroliți este însă mult mai selectivă. Conținutul redus de Na și bogat în K al celulelor (vezi tab.9.2) se datorează atât unei permeabilități diferențiate a membranelor celulare față de acești cationi, cât și unui sistem de transport activ, energodependent al ionilor. Cunoscut sub denumirea de "pompa de sodiu", sistemul enzimatic al Na-K-ATP-azei asigură o expulzare a sodiului din lichidul intracelular și la menținerea în celule a potasiului. Mecanismele mai sus menționate, nu exclud însă un anumit schimb de electroliți între celule și lichidul extracelular. Așa de exemplu, în caz de pierderi ale potasiului din lichidul extracelular, o parte a acestui cation poate ieși din celule (11,17).

9.4.3. PARTICULARITĂȚI ALE SCHIMBURILOR DE APĂ ȘI ELECTROLIȚI ÎN TESUTUL CONJUNCTIV DENS, CARTILAGII ȘI OASE

Proteoglicanii din țesutul conjunctiv, din cartilagii și din matricea oaselor se comportă ca niște polianioni capabili să fixeze sodiul sub formă inactivă osmotic. De fapt, aproximativ 500 mEq (11,5 g) de sodiu se găsește sub această formă în țesutul conjunctiv dens, iar alte 1400-1900 mEq (32-45 g) de sodiu se află în oase. Aproximativ, doar 30% din acest sodiu participă la schimburi, în cadrul unui echilibru dinamic cu lichidul interstițial. De notat însă că, în comparație cu viteza schimburilor între apa și electroliții din plasmă și cei din lichidul interstițial, schimburile între acesta din urmă și țesutul conjunctiv și oase este mult mai lent.

Din punct de vedere fiziologic este important de a arăta că fixarea sodiului în țesutul conjunctiv dens și oase constituie unul din mecanismele tensio-osmo-reglatoare, iar pentru patologie este de semnalat că acumularea de sodiu în organism, sub formele arătate mai sus, poate surveni și atunci când concentrația plasmatică a acestui cation rămâne neschimbată. Prin utilizarea sodiului radioactiv (^{24}Na) s-a ajuns la stabilirea noțiunii de sodiu schimbabil (exchangeable Na, Na_E) reprezentând acea fracțiune a sodiului care poate fi echilibrată cu sodiul radioactiv injectat intravenos (8,9). Pentru a se obține valoarea Na_E se calculează în prealabil activitatea specifică (AS) a izotopului în plasmă conform formulei:

$$AS = \frac{{}^{24}\text{Na}(\text{impulsuri} / \text{minut} / \text{litru})}{{}^{24}\text{Na} + \text{Na neradioactiv} (\text{mEq} / \text{l})} \quad \text{iar apoi}$$

$$\text{Na}_E = \frac{{}^{24}\text{Na injectat} - {}^{24}\text{Na urinar}}{AS \text{ din plasmă}}$$

În condiții normale valoarea Na_E este de 2800-3000 mEq (41-42 mEq/kg), pe când cantitatea totală de sodiu din organism este de 3500-4500 mEq (80-100g). O creștere a Na_E poate avea implicații în patologia cardiovasculară, știindu-se că o acumulare de sodiu în pereții arteriolelor le face mai susceptibile la agenții vasoconstrictori (catecolamine, angiotensina II).

9.4.4. SCHIMBURI DE APĂ ȘI ELECTROLIȚI LA NIVELUL MUCOASEI TRACTULUI DIGESTIV ȘI LA NIVELUL RINICHILOR

În organism se formează în permanență secreții (lichide transcelulare) așa cum sunt sucurile digestive, precum și lichide de ultrafiltrare cum este urina. De exemplu, în tubul digestiv se secretă zilnic până la 10 litri de apă și 1500 mEq de sodiu (suc gastric, pancreatic, bilă, suc intestinal), dar datorită retrorezorbției, fecalele conțin, în mod normal, doar 100-200 ml apă și 10-15 mEq de sodiu. Așa cum se vede din tabelul 9.3, diferitele secreții digestive diferă între ele precum și față de plasmă în privința compoziției în electroliți.

Volumul secreției sudorale este extrem de variabil și depinde de temperatura mediului ambiant. Caracteristic este însă caracterul hipoton al sudoarei în care concentrațiile de sodiu și de clor sunt de abia 30-50 mEq/l și pot ajunge la cel mult 70 mEq/l. De fapt creșteri ale concentrației clorului sudoral la peste 70 mEq/l și chiar până la 120 mEq/l sugerează o mucoviscidoză, cu sau fără fibroză chistică a pancreasului.

Tabel 9.3

Volumul și concentrația în electroliți ale unor secreții digestive în comparație cu compoziția plasmăi. După Kleinman și Lorenz (11).

	Volum mediu al secreției	Concentrația în electroliți (mEq/l)			
		Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-
Plasmă	-	140	4	103	26
Suc gastric*	2600	8-120	1-30	8-124	0-20
Bilă	700-1000	134-156	4-6	83-110	38
Suc pancreatic	> 1000	113-153	2-7	54-95	110
Suc intestinal**	3000	72-120	3,5-7	69-127	30

* Compoziția în electroliți a sucului gastric variază în funcție de aciditate. Cu cât aciditatea este mai mare cu atât este mai înaltă concentrația în Cl^- și mai joasă concentrația în Na^+ și HCO_3^- .

** Datele privind sucul intestinal se referă la mostre obținute prin sonda Miller-Abbot, evitându-se amestecul cu bila și suculele pancreatice.

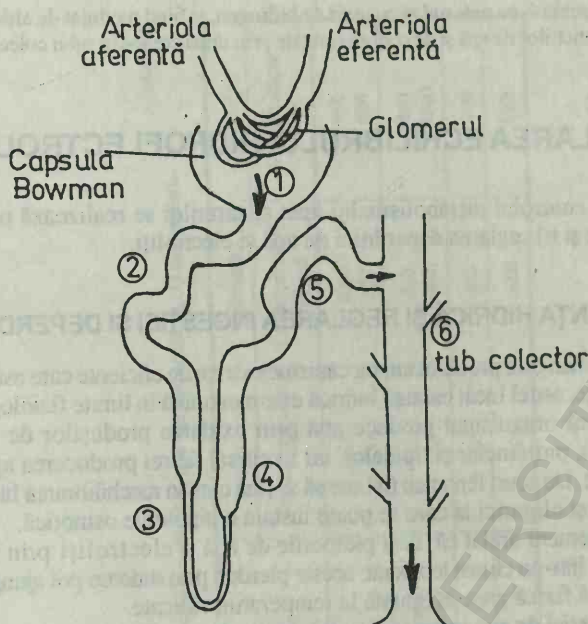


Fig. 9.2. Componenta nefronului și intervenția diferitelor sale segmente în formarea urinei și în menținerea echilibrului hidromineral.

- 1) - filtrarea glomerulară și formarea unui ultrafiltrat;
- 2) - la nivelul tubului contort proximal reabsorbția isoosmotică a apei și sărurilor;
- 3) - la nivelul ramurei descendente a ansei Henle, reabsorbția selectivă a apei și implicit creșterea osmolarității fluidului intratubular;
- 4) - pe parcursul ramurei ascendente a ansei lui Henle (porțiunea mai groasă) are loc o reabsorbție selectivă a NaCl, iar fluidul tubular devine hipotonic;
- 5) - la nivelul tubului contort distal reabsorbție a apei în cadrul unui proces dependent de hormonul antidiuretic și reabsorbția sodiului la schimbul cu ionii de hidrogen și cu potasiul (proces de stimulat de aldosteron);
- 6) - la nivelul tubilor colectori se continuă ajustarea hormono-dependență a reabsorbției de apă și de sodiu.

Cele mai importante eliminări de apă și electroliți survin însă la nivelul rinichilor, unde zilnic se filtrează 200 litri de apă și aproximativ 30000 mEq de sodiu. Datorită însă unui proces de retroreabsorbție tubulară extrem de eficient, se pierde zilnic prin urină doar 1-1.5 l de apă și 100 mEq de sodiu. De fapt, eliminările urinare de sodiu variază în limitele fiziologice de 40-220 mEq/24 ore în funcție de consumul alimentar de sare.

Aproximativ 70% din filtratul glomerular se reabsoarbe isoosmotic în tubul proximal din cortexul rinichilor. Pe parcursul trecerii sale prin ramura descendentă a ansei lui Henle, restul de filtrat glomerular vine în contact cu interstițiul hipertonic al medulei rinichilor și astfel se reabsoarbe selectiv apă, iar filtratul din tubii renali devine mai concentrat în electroliți. Ajuns în ramura ascendentă a ansei lui Henle, care este relativ impermeabilă pentru apă, dar care asigură o reabsorbție activă a sodiului și clorurii, filtratul devine hipoton atunci când trece în tubul contort distal. Acest segment al tubilor renali, fiind însă permeabil pentru apă, în prezența hormonului antidiuretic, se asigură o nouă retroreabsorbție a apei și o concentrare a urinei. Tot în tubul contort distal se mai reabsoarbe o parte din sodiul filtrat, acest pro-

ces efectuându-se la schimb cu potasiul și cu ionii de hidrogen, și fiind modulată de aldosteron (6,11,17). Ajustarea finală a cantităților de apă și de sodiu excretate prin urină are loc în tubii colectori (vezi fig.9.2).

9.5. REGLAREA ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

În principiu, controlul metabolismului apei și sărurilor se realizează prin: a) reglarea ingestiei de lichide și b) reglarea deperdiției de apă și electroliți.

9.5.1. BALANȚA HIDRICĂ ȘI REGLAREA INGESTIEI ȘI DEPERDIȚIEI DE APĂ

Organismul uman este prevăzut cu, mecanisme extrem de eficiente care asigură înlocuirea pierderilor de lichide, astfel încât balanța hidrică este menținută în limite fiziologice (vezi tabel 9.4). De subliniat că organismul produce apă prin oxidarea produșilor de metabolism ai hidraților de carbon, proteinelor și lipidelor, iar în cursul febrei producerea apei de oxidație este evident crescută. De acest fenomen trebuie să se țină cont în reechilibrarea hidroelectrolitică a bolnavilor febrili și oligurici la care se poate instala o hipotonie osmotică.

Trebuie de asemeni arătat că, deși pierderile de apă și electroliți prin sudoare, sunt minime, în repaos și într-un climat temperat, aceste pierderi prin sudoare pot ajunge la 2 litri/oră, în condiții de muncă fizică grea, efectuată la temperaturi ridicate.

Reglarea ingestiei de apă se exercită prin senzația de sete. Creșterea osmolarității lichidului extracelular, (creșterea concentrației de sodiu) determină o ieșire a apei din neuronii zonelor din hipotalamus care conțin centrii reglării ingestiei de apă ceea ce duce la apariția senzației de sete. Stimularea acestor centri se realizează și ca urmare a scăderii volumului lichidului intravascular, respectiv prin impulsuri venite de la receptorii de volum din atriile inimii, vena cavă inferioară și venele pulmonare (receptori la distensie) precum și de la baroreceptorii din aortă și arterele carotide. Angiotensina II circulantă și injectarea cu caracter experimental de agenți colinergici în hipotalamus, evocă de asemeni senzația de sete.

Aceiași stimuli, respectiv creșterea osmolarității lichidului extracelular, scăderea volumului sângelui circulant și angiotensina II determină și o **stimulare a centrilor care reglează eliminările de apă**, aflați tot în hipotalamus dar într-o arie diferită de cea în care se află centrii care controlează ingestia de apă. Excitarea centrilor cu rol în reglarea eliminărilor de apă se soldează cu eliberarea de hormon antidiuretic (ADH). Acest hormon cu structură non-peptidică eliberat din neurohipofiză, cunoscut și sub denumirea de vasopresină, acționează asupra tubilor contorți distali și a tubilor colectori, determinând retrorezorbția apei și reducerea eliminărilor urinare de apă. Efectele ADH asupra tubilor renali contorți distali și colectori se traduce prin creșterea permeabilității lor pentru apă, procesul fiind mediat prin sistemul adenilat-ciclază-AMP ciclic. Ajuns în circulație ADH este relativ rapid inactivat la nivelul rinichilor și ficatului, având un timp de înjumătățire în plasmă de aproximativ 18 minute. De notat că eliberarea ADH poate avea loc și sub acțiunea morfinei, nicotinei și barbituricelor, iar emoțiile și senzațiile dureroase determină același efect. Așa cum se va arăta pe parcursul acestui capitol, o serie de stări patologice se asociază cu o creștere a secreției de ADH, neadekvată necesităților (5,14,17).

Mecanismele fiziologice de reglare a metabolismului apei și a presiunii osmotice sunt reprezentate schematic în fig.9.3.

Ca un corolar la cele arătate mai sus, trebuie menționat că senzația de sete poate apare și în afară de mecanismele menționate, de exemplu în caz de uscăciune a mucoasei bucale cauzată prin

Tabel 9.4.

Echilibrul hidric al unui subiect normal în diferite condiții. Valorile exprimate în ml/24 ore. După datele din literatură (9,11) completate.

	Aport				Eliminări		
	Condiții normale	La temperatură ridicată	La efort intens		Condiții normale	La temperatură ridicată	La efort intens
Apa ingerată	1200	2200	3400	Urină Pământ	1400 450	1200 350	550 600
Apa din alimente	1100	110	1150	Piele (perspirație) Sudoare	450 100	450 1400	450 3300
Apa de oxidație	300	300	450	Scaun	200	200	200
Total	2600	3600	5100	Total	2600	3600	5100

Apa de oxidație crește în cursul bolilor febrile și în genere în caz de accelerare a metabolismului

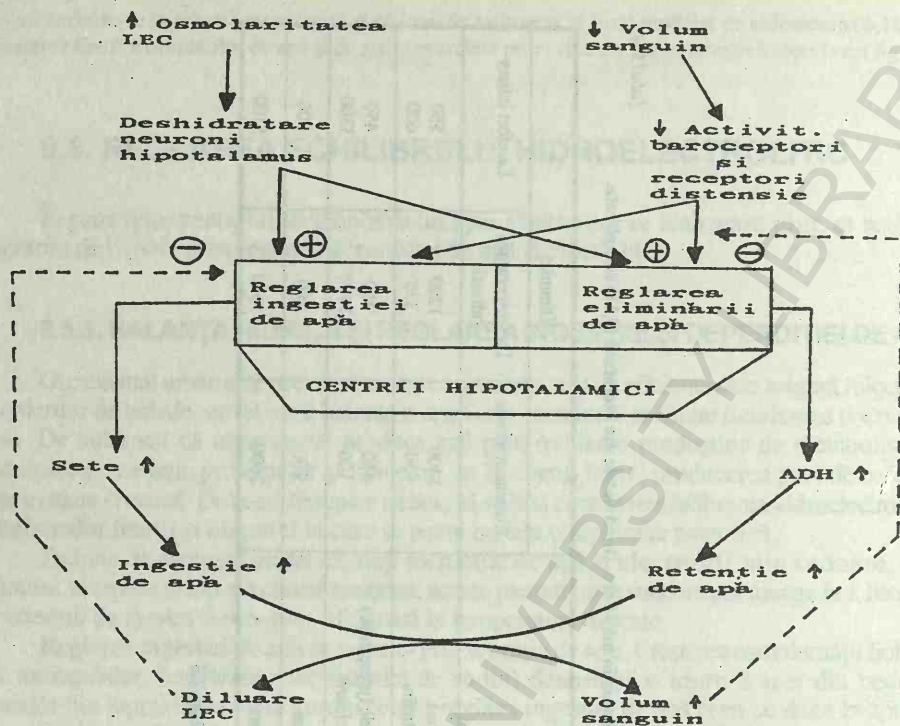


Fig.9.3. Mecanisme de reglare a osmolarității lichidului extracelular (LEC) cuplate cu reglarea volumului sângelui circulant. ADH = hormon antidiuretic; linia întreruptă însoțită de semnul "⊖" indică un efect de feed-back negativ.

administrarea de atropină. Pe de altă parte, ingestia de apă, mai ales rece, poate produce o potolire a senzației de sete, înainte ca apa ingerată să se absoarbă și bineînțeles înainte de refacerea osmolarității lichidului extracelular și a volumului sanguin. Acest efect se datorează umețării mucoasei bucale și distensiei tubului digestiv. De fapt simpla distensie a stomacului, cu un balon gonflabil, produce o potolire a senzației de sete pe timp de până la 30 de minute. Astfel de mecanisme previn o suprahidratare bruscă și fac ca individul însetat să-și refacă progresiv nevoile de apă (5).

9.5.2. REGLAREA DEPERDIȚIEI DE SODIU

Reglarea conținutului de sodiu al organismului, este în strânsă legătură cu reglarea tensiunii arteriale și cu echilibrul potasiului, iar principalul, sau în orice caz cel mai bine studiat, mecanism de control este reprezentat de **sistemul renină-angiotensină-aldosteron**.

Renina este o enzimă proteolitică, stocată și secretată de către celulele aparatului juxtaglomerular din rinichi (macula densa). Localizarea cu totul particulară a acestor celule, le permite sesizarea variațiilor presiunii arteriale din rinichi, precum și osmolaritatea, respectiv conținutul de sodiu al fluidului din interiorul tubilor contorți distali. De fapt, scăderea presiunii de perfuzie a rinichiului și scăderea concentrației de sodiu din tubii contorți distali, reprezintă principalii stimuli pentru eliberarea în circulație a reninei. La acești stimuli se adaugă

impulsurile venite pe calea nervilor simpatici, care acționează independent de modificările fluxului sanguin.

Ajunsa în circulație, renina acționează asupra unei glicoproteine produse în ficat, denumită angiotensinogen și eliberează din molecula acestuia un decapeptid, încă inactiv, cunoscut sub denumirea de angiotensina I. La rândul său angiotensina I suferă un proces de clivare care duce la îndepărtarea a doi aminoacizi și se transferă într-un octapeptid, angiotensina II. Procesul mai sus arătat se petrece sub acțiunea enzimei de conversie aflată în sânge și în majoritatea țesuturilor, dar mai ales în plămâni și în rinichi.

Angiotensina II are timp de înjumătățire în plasmă extrem de redus, de doar 1-2 minute, dar în acest scurt interval de timp exercită efecte însemnate, producând vasoconstricție prin acțiunea directă asupra musculaturii netede a arteriolelor și prin activarea sistemului nervos simpatic.

Totodată angiotensina II stimulează centrul hipotalamic care reglează senzația de sete și a celor care duc la eliberarea de hormon antidiuretic (ADH), iar la nivelul celulelor straturilor glomerular al corticosuprarenalelor, determină o importantă secreție de aldosteron (7,11,17). Secreția acestui hormon mineralocorticoid este stimulată și de creșterea nivelului potasiului din plasmă. Întrucât s-au semnalat creșteri ale secreției de aldosteron, în stările de anxietate, traume psihice, precum și după intervenții chirurgicale s-a sugerat și un rol al stimulilor diencefalohipofizari. Este însă greu de evaluat importanța acestor stimuli față de cei reprezentați de angiotensina II și de creșterea potasemiei.

Nivelul plasmatic bazal de aldosteron este de abia 0,1 $\mu\text{g/l}$, iar timpul său de înjumătățire în plasmă de 3-6 ore; hormonul este captat și inactivat în ficat, produșii săi de metabolism eliminându-se apoi prin urină sub formă de glicurono- sau sufoconjugăți.

Principalul loc de acțiune a aldosteronului este reprezentat de rinichi și anume la nivelul tubilor contorți distali și colectori. Mecanismul de acțiune al acestui hormon constă din inducerea enzimelor implicate în controlul schimburilor de ioni la nivelul membranelor celulare (ca de exemplu Na-K-ATP-aza). Ca urmare se favorizează reabsorbția de sodiu și eliminările de potasiu și de hidrogen-ioni. Atunci când, în urma acestor efecte, se ajunge la o creștere a sodiului plasmatic și implicit a osmolarității, intră în joc mecanismele de reglare a aportului și deperdiției de apă, ceea ce duce la refacerea volumului lichidului extracelular (vezi fig.9.4).

Efecte mai puțin importante ale aldosteronului constau în scăderea eliminărilor de sodiu în salivă și sudoare. Se mai consideră că acest hormon ar crește apetitul pentru sare.

Mecanismele arătate în figura 9.4 nu sunt în măsură să explice pe deplin complexitatea proceselor care reglează echilibrul hidromineral și, de fapt, există indicii conform cărora reglarea eliminărilor de sodiu s-ar efectua, într-o oarecare măsură, chiar și independent de aldosteron. Așa de exemplu, cantitatea de sodiu reabsorbită, încă de la nivelul tubilor contorți proximali, crește în caz de reducere a fracției de filtrare glomerulară, iar o concentrație mărită a presiunii coloidosmotice în capilarele sanguine peritubulare, duce la o sporire a retrorezorbției tubulare de sodiu. O importanță crescândă se acordă în ultimul deceniu, unui așa-zis "factor" (hormon) natriuretic atrial.

Existența unui astfel de factor a fost bănuită, atunci când subiecții supuși unei terapii cu doze fixe de cortisol și mineralocorticoizi, pentru boala Addison sau suprarenalectomizați bilateral, erau totuși capabili să-și moduleze eliminările urinare de sodiu, crescându-le în urma unei încărcări cu clorură de sodiu (12). Ulterior s-a constatat că injectarea intravenoasă a unui omogenat atrial produce la șobolan o marcată diureză și natriureză (4) și s-a evidențiat prezența unui factor natriuretic în miocitele atriilor de mamifere. S-a reușit chiar izolarea și purificarea unor "atriopeptide" cu efect natriuretic, cărora li s-a stabilit secvența în amino-

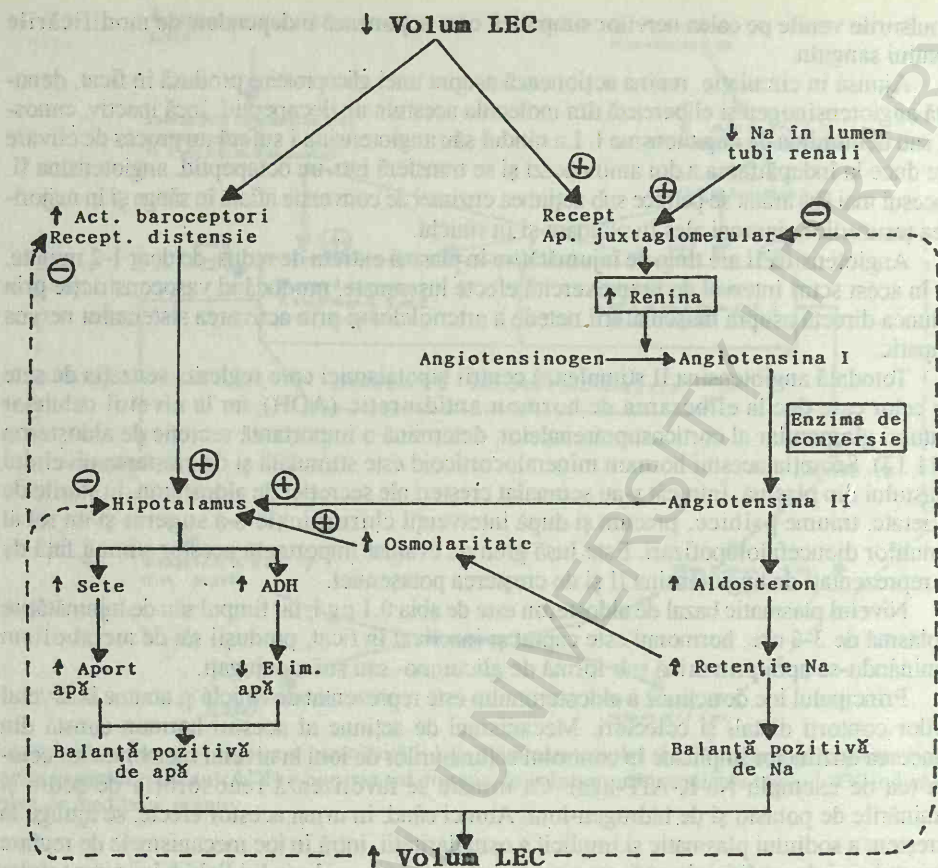


Fig. 9.4. Reprezentare schematică a principalelor mecanisme implicate în reglarea conținutului de sodiu al organismului, cuplate cu menținerea volumului lichidului extracelular (LEC); linia întreruptă însoțită de semnul "Θ" indică efect inhibitor. În schemă nu sunt introduse efectele hormonului (factorului) natriuretic atrial.

cizi (10). Eliberarea în circulație a factorului natriuretic este stimulată de creșterea presiunii intraatriale, precum și de un regim hipersodat. Trecut în circulație, peptidul natriuretic acționează prin intermediul unor receptori specifici și inhibă secreția de aldosteron. Se consideră că factorul (peptidul) natriuretic atrial ar acționa și asupra tubilor renali (tot prin intermediul unor receptori) inhibând Na-K-ATP-aza și ducând astfel la limitarea penetrării sodiului din fluidul tubular în celulele tubilor renali. Se ajunge astfel la reducerea reabsorbției de sodiu și la creșterea eliminărilor urinare ale acestui cation. Așadar, conform datelor actuale, peptidul natriuretic atrial este un hormon de origine cardiacă, care se eliberează ca răspuns la distensia atriilor și determină creșterea excreției de sodiu, inhibă sistemul renină-angiotensină-aldosteron și modulează tensiunea arterială (16).

Există indicii că deficite în producerea și alterarea acestui factor ar putea fi implicate în patogeneza hipertensiunii arteriale și a insuficienței cardiace congestive (13,15). Detalii asupra multiplelor efecte ale diverselor peptide natriuretice provenite din atri și din alte țesuturi pot fi găsite în volumul "*Actualități de farmacologie și fiziopatologie*" (3).

9.6. ANOMALII ALE ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Astfel de anomalii se datorează în majoritatea cazurilor unor pierderi excesive, dar aportul inadecvat poate contribui la instalarea și mai ales la agravarea dezechilibrelor.

Aportul excesiv de apă și/sau de sodiu are rareori importanță clinică dacă mecanismele homeostatice funcționează normal. Pe de altă parte modificări patologice ale secreției de hormoni cu rol în reglarea echilibrului hidroelectrolitic produc alterări importante ale osmolarității și ale volumului lichidelor din diversele compartimente.

În majoritatea cazurilor, anomaliile interesează atât apa cât și sodiul. Există însă și situații în care perturbarea afectează cu predominanță unul din cele două componente amintite. Anomaliile interesând echilibrul potasiului prezintă particularități și consecințe specifice.

9.6.1. PIERDEREA ÎN EXCES A APEI

Această anomalie se poate instala în următoarele situații:

- a. secreție sudorală excesivă (sudația fiind hipotonă);
- b. vărsături abundente (sucul gastric fiind mai sărac în sodiu decât plasma);
- c. pierderi prin scaune fluide cu un conținut sărac în sodiu (de regulă în gastroenteritele sugarilor);
- d. diureză exagerată cauzată de un deficit de hormon antidiuretic (diabet insipid);
- e. diureză exagerată prin lipsă de răspuns a tubilor renali la stimulul hormonal (diabet insipid nefrogenic moștenit sau câștigat în cadrul unei pielonefrite);
- f. polipnee intense și prelungite survenite în pneumonii, acidoză sau leziuni ale trunchiului cerebral, care pot duce la pierderi de apă pe cale respiratorie.

La aceste mecanisme, date de pierderea în exces a apei, se adaugă anumite stări patologice care limitează ingestia de apă. Între acestea sunt de semnalat, afecțiuni buco-faringiene, lipsă de răspuns la semnalul dat de sete (bolnavi comatoși), mai rar absența setei (adipsie) consecutivă unor leziuni ale hipotalamusului și lipsa aportului de apă în cazul bolnavilor imobilizați și fără o îngrijire adecvată sau în condiții particulare (pierduți în deșert). Din păcate, de multe ori pierderile în exces se asociază cu aportul inadecvat.

Deficitul de apă în lichidul extracelular duce la creșterea presiunii osmotice și implicit la ieșirea apei din celule. Se ajunge astfel la manifestările caracteristice deshidratării celulelor: senzație intensă de sete, uscăciunea mucoasei buco-faringiene, pierderea turgorului tegumentelor, lipsa sudorației, hipotonia globilor oculari și adeseori febră.

Atunci când mecanismele homeostatice sunt păstrate, ele intervin în mod adecvat declanșând secreția de hormon antidiuretic și ca urmare o creștere a reabsorbției tubulare de apă și oligurie. Este însă evident că acest mecanism nu se va declanșa în caz de diabet insipid, când poliuria persistă în pofida tendinței la deshidratare. De notat că deși, ca urmare a deshidratării, concentrația plasmatică a sodiului este crescută, secreția de aldosteron este

stimulată datorită reducerii volumului lichidului extracelular, iar acest hiperaldosteronism secundar poate agrava hipernatremia.

Principalele constatări de laborator sunt hemoconcentrația (creșterea hematocritului), hiperproteinemie, hipernatremie și moderată creșterea ureei sanguine. Urina este în cantitate redusă (excepție făcând diabetul insipid). De regulă urina este concentrată, având un conținut crescut de uree, dar sodiul urinar poate fi scăzut în cazurile în care s-a declanșat o secreție de aldosteron.

Toate manifestările clinice și de laborator cedează rapid dacă se administrează cantități corespunzătoare de apă. Când aportul de apă întârzie, iar pierderile de apă persistă, se instalează o stare de letargie, hipotensiune și șoc. Fenomenele devin extrem de severe când deperdiția de apă depășește 15% din greutatea corpului.

9.6.2. DEFICITUL DE SODIU

O dietă normală asigură un aport de 50-150 mmoli de sodiu, dar sodiul secretat zilnic în tractul digestiv depășește de 5-6 ori aportul alimentar. Aproape tot sodiul secretat în tractul digestiv se reabsoarbe, iar o cantitate, aproximativ echivalentă cu cea ingerată, se elimină prin urină. Doar mici cantități de sodiu se elimină, în mod normal, prin fecale și sudoare.

Depleția de sodiu apare, de regulă, ca urmare a pierderilor de secreții gastrointestinale (mai ales diarei profuze) sau prin pierderi urinare cauzate de boli renale sau endocrine (insuficiență suprarenală, hipoadosteronism). Diureza osmotică cauzată de glicozuria excesivă din diabetul zaharat decompensat se poate asocia cu importante pierderi urinare de sodiu.

Pierderi urinare de sodiu se pot întâlni, în perioada poliurică de reluare a diurezei, la un bolnav cu insuficiență renală acută. Deși sudoarea este relativ săracă în sodiu, pierderile acestui cation pe o astfel de cale pot deveni importante atunci când sudorația este excesivă.

De notat că, în toate situațiile menționate mai sus, se pierde, de fapt, atât sodiul cât și apa. Atunci când aceste pierderi sunt înlocuite doar printr-un aport de apă, fără a se administra și săruri, se poate ajunge la un deficit de sodiu și la scăderea marcată a osmolarității lichidului extracelular. S-ar părea deci, că în condițiile arătate mai sus, deficitul sever de sodiu apare ca urmare a necunoașterii echilibrului hidroelectrolitic, sau a neglijenței serviciilor de reanimare, fiind un exemplu tipic de perturbare indusă iatrogenic. Tratamentul cu diuretice (în special saluretice), restricția de sodiu, aplicate bolnavilor cu insuficiență cardiacă, pot reprezenta de asemenea cauze ale deficitului de sodiu.

Mobilizarea sodiului din țesutul conjunctiv dens și din oase ar putea compensa, pe timp limitat, pierderile de sodiu din lichidul extracelular, iar oprirea secreției de hormon antidiuretic (ADH) și creșterea eliminărilor urinare de apă pot contribui la menținerea osmolarității. Atunci însă când se ajunge la o scădere a volumului extracelular, se produce o stimulare a secreției de ADH prin mecanismele arătate anterior (vezi fig.9.3 și 9.4). Așa dar, în stadiile avansate ale depleției de sodiu, menținerea osmolarității este sacrificată în scopul menținerii volumului plasmatic. Scăderea osmolarității lichidului interstițial va duce la deplasarea apei spre celule, determinând o scădere și mai accentuată a volumului lichidului extracelular, precum și apariția hiperhidratării celulare. Hiperhidratarea celulelor cerebrale se traduce prin cefalee, confuzie și chiar prin convulsii, iar senzația de sete lipsește. Aceste manifestări clinice depind atât de gradul de scădere a sodemiei cât și de viteza cu care se instalează o astfel de scădere (2,8,9).

În cazurile în care depleția de sodiu s-a instalat brusc, fenomenele cerebrale amintite mai sus sunt deosebit de pregnante realizând "intoxicația cu apă". Simptomele sunt mai puțin ful-

minante când depleția de sodiu are un caracter cronic și când se instalează crampe musculare, greață, vomă și o stare de letargie.

Cunoașterea condițiilor care duc la deficit de sodiu, precum și a manifestărilor clinice cauzate de acest deficit, este cu atât mai importantă cu cât datele de laborator nu sunt întotdeauna concludente. De fapt, în stadiile inițiale se constată doar o hemoconcentrație și o creștere moderată a ureei în sânge, iar hiponatremia și scăderea osmolarității apar abia mai târziu când și fenomenele clinice sunt mai exprimate. De notat că nivelul sodiului plasmatic nu reflectă în mod adecvat gravitatea depleției de sodiu. O evaluare mai corectă s-ar putea obține prin măsurarea sodiului schimbabil (Na_E) dar această explorare nu poate fi efectuată de rutină. Mai accesibilă este determinarea sodiului urinar care prezintă o scădere marcată și precoce (sub $40 \text{ mEq}/24 \text{ h}$), ca expresie a secreției compensatorii de aldosteron. Evident, scăderea sodiului urinar nu va fi detectată în cazurile în care de depleția de sodiu s-a datorat unei insuficiențe suprarenale, sau unei lipse de răspuns a tubilor renali la aldosteron. Pentru boala Addison este caracteristică asocierea hiposodemiei cu hipovolemia și hiperpotasemia.

Tratamentul de corecție al deficitului de sodiu constă în administrarea de NaCl pe cale orală sau intravenos, de preferință sub formă de soluții izotonice.

9.6.3. EXCESUL DE APĂ (INTOXICAȚIA CU APĂ)

Creșterea apei totale din organism, neasociată cu o creștere a sodiului total survine atunci când mecanismele homeostatice sunt depășite de aportul excesiv de apă, sau în caz de anomalii ale mecanismelor care reglează eliminările de apă. Ingestia excesivă de apă survine rar, dar ea a fost semnalată în cazuri de polidipsie psihogenă asociată unor boli psihice sau în urma unor leziuni ale hipotalamusului anterior.

Retenția excesivă de apă survine mai des, ca urmare a deficienței mecanismelor homeostatice și anume:

- a. în cazul administrării unui exces de lichide hipotone la un bolnav cu oligurie;
- b. în prezența unui exces de hormon antidiuretic (ADH) asociat cu administrarea de lichide hipotone.

Excesul de ADH, sau așa zisul **sindrom de secreție nepotrivită de hormon antidiuretic** (syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion, SIADH) poate surveni în numeroase stări patologice, care sunt redate sinoptic în tabelul 9.5.

Diagnosticul acestui sindrom se bazează pe următoarele criterii:

1. Hiponatremie (sub 120 mEq/l și chiar sub 100 mEq/l) și o scădere corespunzătoare a osmolarității.
2. Absența datelor clinice care să sugereze o posibilă depleție a volumului lichidului extracelular.
3. Concentrația (densitatea) urinei este mai mare decât cea care ar trebui să corespundă osmolarității mult scăzute a plasmei.
4. Persistența eliminărilor urinare de sodiu (în jur de 80 mEq/zi) în pofida hiposodemiei.
5. Funcție renală păstrată și lipsa retenției azotate.
6. Funcție normală a suprarenalelor.
7. Dozări radioimunologice de ADH evidențiază valori evident crescute ale acestui peptid. Deși aceste dozări aduc un plus de precizie, ele nu sunt absolut necesare, implicând dificultăți tehnice, pe când determinarea sodemiei și osmolarității pot fi efectuate în mod rutinier.

Mecanismele prin care se ajunge la dezvoltarea SIADH sunt variate și, în unele cazuri, încă destul de obscure. Astfel, în excesul de apă însoțind unele tumori maligne s-a incriminat o producere autonomă și ectopică de ADH în celulele tumorale (vezi tabel 9.5).

Tabel 9.5.

**Cauze ale sindromului de secreție nepotrivită de hormon antidiuretic (SIADH).
După datele din literatură (5,11,17).**

Secreție autonomă ectopică de ADH:	carcinom bronhial, carcinom al pancreasului, limfosarcom, adenocarcinom al duodenului, carcinom al suprarenalei, carcinom de prostată, carcinom al ureterului, timom.
Afecțiuni cerebrale iritative care determină o secreție crescută de ADH:	meningite (piogenice sau tuberculoase), encefalite, abces cerebral, tumori cerebrale, hemoragii subarahnoidiene, hematom subdural, hidrocefalie, traumatisme cu fracturi craniene, accident vascular cerebral, porfirie acută intermitentă.
Afecțiuni pulmonare și ale cutiei toracice:	tuberculoză pulmonară, pneumotorace, bronhopneumopatie cronică obstructivă, pneumonii, ventilație artificială.
Infecții:	peritonite, septicemie, infecții urinare
Alte stări patologice:	boala Hodgkin, leucemie acută mieloidă, stress chirurgical.
Medicamente	morfina, ciclofosamidă, vincristină, clorpropamidă, barbiturice, carbamazepină, metformin.

Leziuni cerebrale iritative pot duce la o secreție crescută de ADH chiar și în lipsa stimulilor adecvați (reprezenți de hipertonia osmotică și de scăderea volumului lichidului extracelular).

Într-o serie de afecțiuni pulmonare se incriminează o reducere a aflului de sânge spre atriul stâng, astfel încât receptorii atriali de distensie percep, în mod eronat, o reducere a volumului plasmatic, deși volumul lichidului extracelular este normal sau mai degrabă crescut. Același mecanism de reducere a aflului de sânge spre atri și de "hipovolemie regională" survine și în cazurile de insuficiență a inimii drepte.

La aceste mecanisme se adaugă infecțiile care pot declanșa o hipersecreție de ADH în cadrul reacției de fază acută. De altfel, frica, traumatismele, anestezia și intervențiile chirurgicale, precum și o serie de medicamente (vezi tabel 9.5) duc la o creștere a activității ADH, stimulându-i secreția, prelungindu-i persistența în plasmă sau accentuându-i efectele asupra rinichilor.

De notat că în pofida hiponatremiei, lipsește tendința de compensare printr-un efect mediat de aldosteron. Se presupune că o creștere a volumului plasmatic inhibă sistemul renin-angiotensin-aldosteron, iar, pe de altă parte, excesul de ADH ar anula efectele aldosteronului la nivelul tubilor renali. Manifestările clinice ale intoxicației cu apă sunt date, ca și în cazul deficitului de sodiu, de o hiperhidratare a sistemului nervos central. Procesele descrise mai sus atrag atenția asupra pericolului reprezentat de administrarea în exces a unor lichide hipotone la bolnavi traumatizați, precum și asupra riscului asocierii oxitocinei (cu efect antidiuretic) cu perfuziile unor cantități mari de lichide hipotone (5,11,17).

9.6.4. EXCESUL DE SODIU

Această anomalie se întâlnește doar rareori în formă pură (adică neasociată cu retenția de apă). Ea poate totuși surveni după infuzii intravenoase de soluții hipertone de NaHCO_3 date unor bolnavi oligurici. Hipersodemii până la 170 mEq/l s-au descris și după clismie cu soluții saline hipertone, precum și la naufragații care au ingerat apă de mare, sau după o așa-zisă "cură de sete" aplicată în mod abuziv bolnavilor cu glomerulonefrită acută.

Pentru a se putea afirma cu certitudine existența unui exces de sodiu și nu doar o hipernatremie relativă consecutivă deshidratării este nevoie să se demonstreze o creștere a valorii sodiului schimbabil (Na_E). De regulă, în excesul de sodiu se ajunge la hipertonie osmotică și la deshidratare celulară, întocmai ca și în cazurile de pierdere în exces a apei, iar senzația de sete este extrem de accentuată. De notat că terapia de corecție a unei hipersodemii prin administrarea orală sau intravenoasă de lichide hipotone, trebuie administrată cât mai curând și progresiv. Dacă hipersodemia a persistat timp de mai multe zile, iar refacerea osmolarității se face brusc, există riscul unei hiperhidratări a celulelor cerebrale. Acest fenomen s-ar explica prin aceea că în timpul hipertoniciei osmotice prelungite a lichidului extracelular, celulele sistemului nervos central și-au crescut osmolaritatea atât prin ieșirea apei din celule cât și prin acumularea în celule a unor micromolecule organice produse de metabolismul celular (osmoli idiogenici). Refacerea bruscă a osmolarității lichidului extracelular va atrage apa din acest sector spre celulele creierului cu osmolaritate crescută, ceea ce implică riscul edemului cerebral manifestat prin convulsii și comă.

De notat că hipersodemiile sugarilor, survenite de regulă în cadrul deshidratării, sunt mai severe decât în cazul adulților. Se recomandă ca refacerea hiperosmolarității unui sugar cu ajutorul unei soluții hipotone, să decurgă cu o viteză de scădere a osmolarității de doar $1\text{-}2 \text{ mosmoli/l}$ plasmă/oră, o astfel de terapie putând reduce o sodemie de la valoarea de 165 mEq/l la valoarea normală de 140 mEq/l în decurs de 24 ore (17).

9.6.5. RETENȚIA DE APĂ ȘI SODIU (EDEMELE)

Retenția combinată de apă și sodiu, survine destul de frecvent în patologia clinică, iar atunci când volumul lichidului interstițial crește cu cel puțin 10% se instalează edemele. Acestea apar ori de câte ori ieșirea fluidului din capilare, depășește capacitatea de reîntoarcere sau de drenare pe cale limfatică. Edemele se dezvoltă mai ales în țesutul conjunctiv subcutanat, care, fiind lax, poate fi destins cu ușurință de lichidele care se acumulează. Astfel de acumulări se întâlnesc în diferitele stări patologice ca de exemplu în boli renale, ciroză hepatică, cașexie, insuficiență cardiacă. Alături de obstrucția căilor limfatice care intervine mai ales în patogeneza edemului inflamator sau ca urmare a infiltrării tumorale, factorii care contribuie la dezvoltarea edemelor sunt creșterea permeabilității capilarelor, scăderea presiunii coloidosmotice și creșterea presiunii hidrostatice în capilare. Există dovezi că o hipersecreție de aldosteron, așa zisul hiperaldosteronism secundar joacă un rol important în majoritatea stărilor patologice evoluând cu formarea de edeme, alcătuind o verigă patogenică comună. Principalele mecanisme care contribuie la formarea edemelor sunt prezentate mai jos:

a. Scăderea presiunii coloidosmotice a plasmăi, în caz de hipoalbuminemie (sindrom nefrotic, ciroză hepatică, cașexie, enteropatie cu pierdere de proteine) are drept efect o redistribuire a lichidului extracelular, care scade în sectorul vascular și crește în interstițiu. Acest mecanism este însă insuficient pentru a produce o acumulare netă de apă și sodiu în organism. Scăderea volumului plasmatic determină însă o secreție de aldosteron și de hormon antidiuretic (vezi fig. 9.4) și duce implicit la o retenție de sodiu și de apă. Întrucât lichidul continuă

Insuficiență cardiacă congestivă

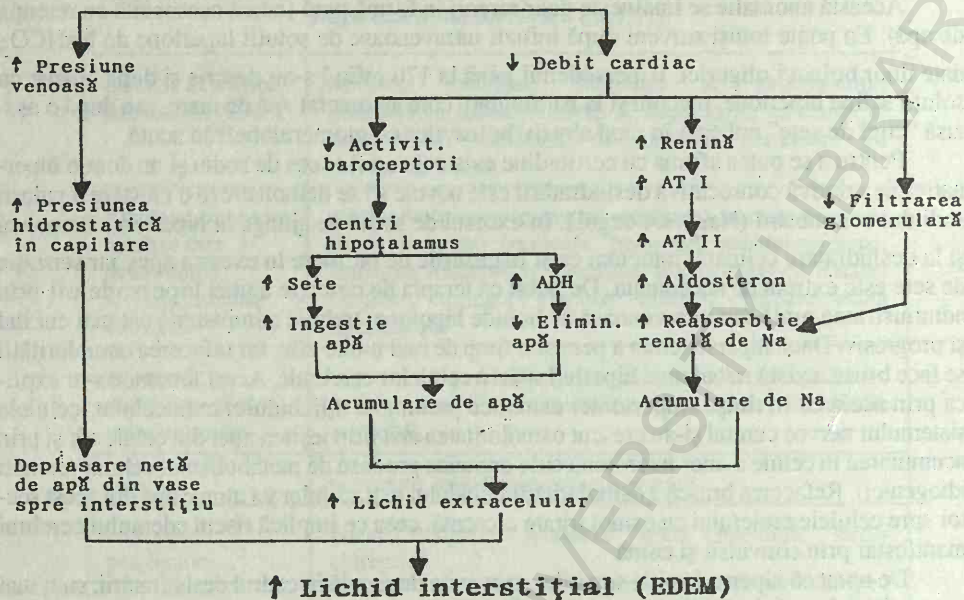


Fig.9.5. Mecanisme implicate în patogeneza insuficienței cardiace congestive (explicații în text). După Kleinman și Lorenz (11) modificată.

să difuzeze în interstițiu, se împiedică restabilirea volumului plasmatic, astfel încât secreția de aldosteron și de ADH nu sunt inhibitate printr-un mecanism adecvat de feed-back negativ. Din aceste motive echilibrul homeostatic nu se restabilește, ajungându-se la importante acumulări de apă și de sodiu.

b. În nefritele acute mecanismele implicate în producerea edemelor sunt reprezentate în primul rând de scăderea marcată a filtrării glomerulare, de modificări generalizate ale permeabilității capilarelor și mai ales de perturbarea circulației intrarenale care pune în joc mecanismul renină-angiotensină-aldosteron.

c. **Insuficiența cardiacă congestivă** se asociază cu edeme, datorită creșterii presiunii hidrostatice din capilare, ca urmare a stazei venoase, precum și datorită scăderii debitului cardiac, cu repercusiuni asupra presiunii de perfuzie la nivelul rinichiului, ceea ce duce la scăderea filtrării glomerulare și la punerea în joc a mecanismului renină-angiotensină-aldosteron precum și la sporirea secreției de ADH.

Creșterea volumului sanguin și a presiunii din atri ar trebui să reducă stimulii care determină secreția de aldosteron și să amplifice secreția de hormon natriuretic atrial, dar stimulii acționând asupra aparatului juxtaglomerular mențin activarea continuă a secreției de aldosteron și de ADH. O reprezentare schematică a mecanismelor implicate în patogeneza edemelor din insuficiența cardiacă este redată în fig.9.5.

Deși rolul jucat de aldosteron în patogeneza retenției de sodiu și în formarea edemelor este deosebit de important, el nu trebuie absolutizat și va fi interpretat doar în contextul și în asociere cu celelalte mecanisme patogenice. De fapt, singura administrare de aldosteron nu poate duce la o retenție continuă de sodiu, iar după acumularea unei cantități de aproximativ 300-500 mEq de Na, se ajunge la

fenomenul de "scăpare" (escape) când organul efector (adică rinichiul) nu mai răspunde la aldosteron, iar sodiul începe să se elimine prin urină. De asemenea, reducerea fluxului sanguin printr-un rinichi în caz de stenoză a unei artere renale se însoțește de eliberarea de renină și de o stimulare a secreției de aldosteron, dar nu evoluează cu edeme. Chiar și în hiperaldosteronismul primar, în care secreția de aldosteron este mult crescută, formarea edemelor este limitată. Se consideră că hipertensiunea arterială care însoțește atât stenoza arterei renale cât și hiperaldosteronismul primar, duce la creșterea filtrării glomerulare, ceea ce limitează acumularea de apă și de sodiu.

Spre deosebire de cele două anomalii arătate mai sus, în insuficiența cardiacă congestivă, în ciroza hepatică și în majoritatea cazurilor de sindrom nefrotic, tensiunea arterială nu este crescută, iar filtrarea glomerulară este diminuată.

9.6.6. HIPERALDOSTERONISMUL PRIMAR (SINDROMUL CONN)

Hiperaldosteronismul primar reprezintă o cauză rară de hipertensiune arterială. Este cauzat în 70-80% a cazurilor de un adenom al unei singure suprarenale, iar atunci când este recunoscut din timp, poate fi curabil prin îndepărtarea pe cale chirurgicală a adenomului. Dacă nu este îndepărtat, adenomul va secreta aldosteron în mod autonom, sau, cu alte cuvinte, secreția decurge independent de mecanismele de reglare și nu răspunde la impulsurile de feed-back negativ.

Pe lângă hipertensiunea arterială, hiperaldosteronismul primar se caracterizează prin poliurie, la care se adaugă simptome mai nespecifice cum ar fi fatigabilitate, parestezii și tendința la tetanie.

Laboratorul evidențiază o scădere a potasiului seric, o creștere moderată a sodemiei precum și o alcaloză metabolică, iar în urină se constată o creștere a eliminărilor de potasiu.

Diagnosticul se confirmă prin detectarea unei creșteri importante a concentrației de aldosteron în plasmă și printr-o eliminare masivă de aldosteron în urină. Caracteristică este supresia până la valori nule a reninei plasmatice, fapt care contrastează cu valorile crescute ale reninei plasmatice în cazurile de hiperaldosteronism secundar (insuficiență cardiacă, stenoza arterei renale) (vezi tabel 9.6). O probă relativ simplă (testul George) constă în administrarea consecutivă pe timp de 4 zile a 11-12 g NaCl/zi; la bolnavii cu hiperaldosteronism

Tabel 9.6.

Comportarea nivelelor plasmatice de renină și de aldosteron în diferite stări patologice

Activitatea reninei	Scăzută (chiar nulă)	Crescută	Crescută	Scăzută
Secreția de aldosteron	mult crescută	crescută	scăzută	scăzută
	Hiperaldosteronism primar (sindrom Conn)	Hiperaldosteronism secundar (ciroză, nefroză, insuf. cardiacă, hipertensiune renovasculară) graviditate	Insuficiență suprarenală (Diverse deficite în secreția de aldosteron)	Încărcări exogene cu sare. Administrarea de substanțe care cresc volumul lichidului extracelular

primar, acest regim va duce la o scădere și mai marcată a potasiului seric care ajunge la valori sub 3,5 mEq/l.

Fiziopatologia hiperaldosteronismului primar ridică o serie de probleme interesante. Astfel ca urmare a creșterii reabsorbției tubulare a sodiului, se accentuează eliminările urinare de potasiu, iar depleția de potasiu duce la alcaloză metabolică, acidoză tisulară și acidurie paradoxală (vezi capitolul 8).

Așa cum s-a arătat mai sus, hiperaldosteronismul primar nu evoluează cu edeme, deoarece hipertensiunea arterială duce la creșterea filtrării glomerulare și la poliurie, astfel încât retenția de sodiu este limitată. De altfel depleția de potasiu se repercută defavorabil asupra tubulilor renali care ajung să nu mai răspundă la aldosteron.

În cazuri mai rare hiperaldosteronismul primar este dat de o hiperplazie a ambelor suprarenale (hiperplazie adrenală idiopatică). Recunoașterea diferitelor forme de hiperaldosteronism primar este importantă pentru conducerea terapiei (chirurgical în caz de adenom pe o singură suprarenală sau spironolactonă în caz de hiperplazie bilaterală a suprarenalelor). Pentru diferențierea acestor forme se recurge la metode imagistice ca tomografia computerizată sau scintigrafia suprarenală, utilizându-se, în acest ultim procedeu, colesterol marcat cu isotopi, care se fixează relativ rapid în suprarenale. De reamintit că sinteza de aldosteron pornește de la colesterol. Atunci când există condiții adecvate se recomandă cateterizarea venelor ambelor suprarenale, urmată de dozări ale raportului aldosteron/cortizol în efluentul din fiecare venă.

9.6.7. ANOMALII ÎN ECONOMIA POTASIULUI

Așa cum s-a arătat în tabelul 9.2 potasiul este localizat cu predominanță intracelular, iar variațiile concentrațiilor sale în plasmă dau doar indicații aproximative asupra conținutului de potasiu al organismului. De fapt, cercetări efectuate cu izotopi radioactivi (^{42}K sau ^{43}K) au demonstrat că din cele aproximativ 3000-5000 mEq de potasiu din organism, doar 50-80 mEq se găsesc în lichidul extracelular. Ca urmare, deplasări relativ minore de K spre sau în afara celulelor, se vor solda cu modificări destul de importante ale potasemiei. Potasiul iese din celule în caz de degradare accelerată a proteinelor tisulare precum și în cursul acidozelor, pe când alcalozele și terapia cu insulină determină o deplasare a ionilor K^+ spre celule.

În condiții normale, concentrația potasiului plasmatic este menținută între limite destul de stricte (3,8 - 5 mEq/l) în ciuda conținutului extrem de variat în potasiu al alimentelor ingerate (în medie 100 mEq/zi cu oscilații între 40-200 mEq/zi). Principalul mecanism de menținere a potasemiei este reprezentat de reglarea eliminărilor urinare de K, care la rândul lor se află sub controlul secreției de aldosteron. De notat că o creștere a nivelului potasiului plasmatic stimulează secreția de aldosteron (vezi fig. 9.6). Se știe că potasiul plasmatic se filtrează la nivelul glomerulilor, fiind însă neabsorbit aproape în totalitate la nivelul tubulilor contorți proximali și în ramura ascendentă a ansei lui Henle, astfel încât abia 10% din potasiul filtrat ajunge în tubul contort distal. Aici însă, potasiul din plasmă este secretat în fluidul tubular, procesul decurgând la schimb cu ionii de Na reabsorbiți din fluidul tubular și în competiție cu eliminările de H^+ care se elimină prin același canal ca și ionii de K^+ .

Pe lângă rolul major jucat de aldosteron, eliminările de potasiu la nivelul tubului contort distal sunt amplificate de o dietă bogată în potasiu, precum și de creșterea cantităților de sodiu și de apă ajunse în tubii contorți distali. Așa cum s-a mai arătat, alcaloza accentuează mult eliminările urinare de potasiu (vezi capitolul 8).

Așa cum s-a arătat în tabelul 9.3, sucurile digestive sunt relativ bogate în potasiu, dar ajuns în lumenul intestinal acest cation este în mare măsură reabsorbit, ca și potasiul din ali-

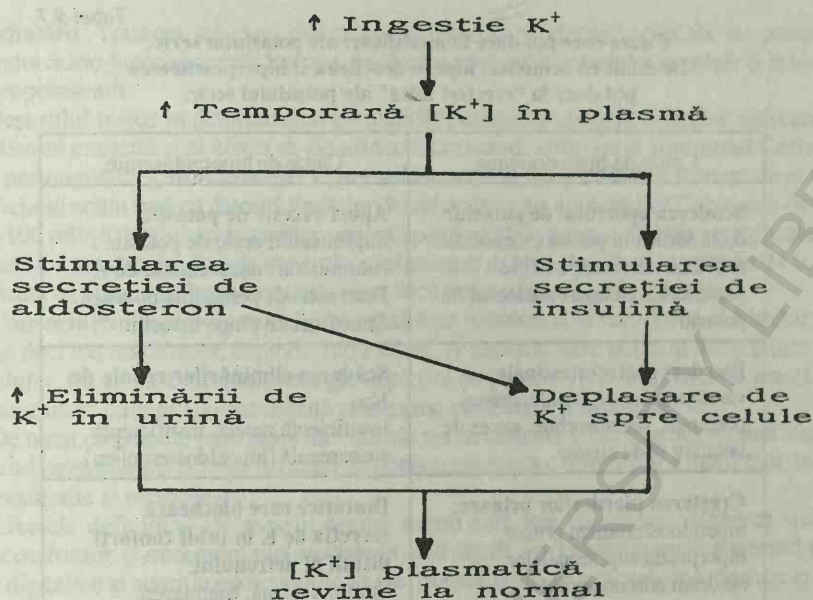


Fig.9.6. Reglarea concentrației plasmatice de potasiu.

mente, astfel încât în materiile fecale se elimină zilnic doar 8-10 mEq (o cantitate redusă comparativ cu eliminările urinare care sunt în medie de 75 mEq/24 ore, cu variații în funcție de dietă). Așa cum este de așteptat, vărsăturile și diareile, alături de exagerarea pierderilor urinare, pot duce la o importantă depleție de potasiu.

Deși modificările “capitalului potasic” nu se însoțesc întotdeauna de modificări în același sens ale potasemiei, acestea din urmă sunt mai ușor accesibile laboratorului clinic. Din acest motiv, anomaliile suferite în economia potasiului sunt abordate, de regulă, în funcție de modificările potasemiei, clasificându-se în hipo- și hiperpotasemiei și precizându-se, pe cât posibil, situațiile în care există și o modificare exprimată a capitalului potasic.

Cauzele care pot duce la scăderi sau creșteri patologice ale potasemiei sunt trecute în tabelul 9.7.

9.6.7.1. HIPOPOTASEMIILE

Este important de precizat că mecanismele care pot duce la hipopotasemie se pot intra-ca. Un exemplu tipic în acest sens este dat de stenoza pilorică. Pierderile de K^+ și de HCl prin vărsături, duc atât la o scădere a potasemiei cât și la o alcaloză metabolică, care, la rândul ei, determină o eliminare crescută de potasiu în urină. Hipopotasemia accentuează alcaloza, iar scăderea volumului plasmatic și a presiunii pulsului în arteriolele renale determină creșterea secreției de aldosteron, prin mecanismele descrise anterior, ceea ce agravează atât pierderile de potasiu cât și alcaloza.

De notat că în cadrul unei aceleiași stări patologice, și la un același bolnav, hiperpotasemia și hipopotasemia pot alterna în funcție de evoluția bolii și de terapie.

Tabel 9.7.

Cauze care pot duce la modificări ale potasiului seric.
De notat că hemoliza, hiperleucocitoza și hiperplachetoza pot duce la "creșteri false" ale potasiului seric.

Cauze de hipopotasemie	Cauze de hiperpotasemie
Scăderea aportului de potasiu: dietă săracă în potasiu, alcoolism, anorexie nervoasă, nutriție parenterală cu aport inadecvat de potasiu	Aport excesiv de potasiu: Suplimentări orale de potasiu. Administrări intravenoase de K. Doze mari de penicilină potasică. Transfuzii de sânge învechit.
Pierderi gastrointestinale: vărsături, diaree, fistule, drenaj prelungit, malabsorbție, exces de laxative și de clisme	Scăderea eliminărilor renale de K: Insuficiență renală, insuficiență suprarenală (hipoaldosteronism)
Creșterea pierderilor urinare: hiperaldosteronism primar, hiperplazia suprarenalelor, sindrom adrenogenital.	Diuretice care blochează secreția de K în tubii contorți distali ai nefronului: Spironolactonă, triamteren, amilorid
Boli renale: acidoză tubulară renală, sindrom Fanconi	Deplasarea potasiului din celule spre lichidul extracelular: Sindrom de strivire*** Hipoxie tisulară*** Deficit de insulină*** supradoză de digitală*** acidoză***, +
Diuretice: tiazide, furosemid, acetazolamidă	
Deplasarea potasiului extracelular spre celule: hiperinsulinism*, alcaloză**	

* - se poate asocia cu o creștere a potasiului total din organism

** - duce și la creșterea eliminărilor urinare de potasiu

*** - se asociază cu depleție a potasiului din organism; + duce și la o scădere a eliminărilor urinare de K.

Așa de exemplu, în insuficiența renală acută, oliguria și implicit scăderea eliminărilor urinare de potasiu vor duce la creșterea potasemiei, dar în perioada de revenire a diurezei, evoluând cu poliurie exprimată, se ajunge la pierderi excesive de potasiu în urină și la hipopotasemie. Tot așa în cursul unei acidoze diabetice, potasiul seric poate fi crescut atât ca urmare a ieșirii sale din celule cât și datorită competiției între eliminările renale de K^+ și H^+ . Pe de altă parte, poliuria cauzată de diureza osmotică asociată glicozuriei duce la diminuarea capitalului potasic al celulelor, care nu își găsește însă un corespondent în nivelul plasmatic de potasiu, care rămâne crescut datorită mecanismelor descrise mai sus, precum și ca urmare

a deshidratării. Tratarea acidozei diabetice cu insulină și glucoză, cuplată cu corectarea echilibrului acido-bazic și cu rehidratarea, produce o reintrare a potasiului în celule și la apariția unei hipopotasemii.

Deși rolul major în determinarea eliminărilor urinare de potasiu îi revine aldosteronului, cortisolul exercită și el efecte de tip mineralocorticoid, astfel încât sindromul Cushing și terapia prelungită cu glucocorticoizi se pot solda cu creșterea pierderilor urinare de potasiu.

Trebuie arătat însă că datorită limitelor destul de largi ale eliminărilor fiziologice de potasiu (20-100 mEq/l) noțiunea de pierdere urinară patologică de potasiu, trebuie interpretată doar în context cu potasemia. Așa de exemplu, o eliminare urinară de 25 mEq potasiu/24 h, va fi considerată ca fiind patologic crescută, doar dacă potasemia este sub 3.5 mEq/l.

Consecințele hipopotasemiei. Potențialul de membrană al nervilor și al fibrelor musculare și deci excitabilitatea, depinde, între altele, de raportul între potasiul intracelular și cel extracelular. Ca urmare simptomatologia depleției de potasiu va fi dominată de manifestări neuromusculare cum ar fi o accentuată slăbiciune musculară și hiporeflexie.

De notat că grupele musculare inervate de nervii cranieni și diafragma nu sunt afectate. La nivelul musculaturii netede, deficitul de potasiu cauzează o diminuare a motilității, tradusă prin constipație și meteorism.

Efectele deficitului de potasiu asupra inimii sunt mai complexe, deoarece sistemul excitoconductor și miocardul sunt afectate în mod diferit. Se constată o creștere a sensibilității față de digitalice și apariția unor modificări electrocardiografice caracteristice, care nu se corelează însă strâns cu concentrația potasemiei.

Depleția cronică de potasiu duce la o scădere a capacității rinichilor de a concentra urina și la o lipsă de răspuns a tubilor renali la stimulii reprezentați de aldosteron și de ADH. Această "nefropatie kaliopenică", poate complica aspectul bolii, ducând la o poliurie care poate ajunge până la 4 l/zi și la o accentuată senzație de sete, iar de multe ori pe acest fond se grefează o infecție dezvoltându-se o pielonefrită.

9.6.7.2. HIPERPOTASEMIILE

În timp ce majoritatea cazurilor de hipopotasemie, survin pe fondul unei depleții de potasiu a organismului, creșterile potasemiei nu se asociază cu o sporire a potasiului din celule. Dimpotrivă, în multe cazuri de hiperpotasemie se poate decela o depleție de potasiu. De fapt, hiperpotasemiile (nivele peste 5.5 mEq/l) se dezvoltă ori de câte ori viteza de ieșire a potasiului din celule depășește posibilitățile de excreție. Astfel de situații sunt menționate în tabelul 9-7. De multe ori creșterea ieșirii din celule a potasiului se asociază cu scăderea procesului de eliminare a acestui cation prin urină. De exemplu în sindromul de strivire sau în șoc toxico-septic, degradarea proteinelor tisulare, duce la o eliberare de potasiu din celule (pentru fiecare 6.25g proteine tisulare degradate se eliberează 2.7 mEq potasiu), iar insuficiența renală oligurică, care complică astfel de stări, perturbă eliminările urinare de potasiu. Ca urmare, în astfel de stări patologice valoarea potasemiei poate ajunge la 7 mEq/l și chiar la 10 mEq/l.

O mențiune specială se cuvine acordată hiperpotasemiilor din insuficiența suprarenală (boala Addison), din diferite deficiențe ale secreției de aldosteron, precum și în cazul lipsei de răspuns a tubilor renali la stimularea produsă de aldosteron.

Consecințele hiperpotasemiei. Manifestările neuromusculare date de hiperpotasemie apar relativ tardiv și se caracterizează prin parestezii, cu furnicături și fibrilații musculare, apărute mai ales la musculatura feței. Deficitul motor variază de la o stare de slăbiciune musculară și până la fenomene de paralizie flască cu progresie ascendentă. Se produc modificări progresive ale ECG, începând cu aspecte de undă T în pisc (la valori de aproximativ 7 mEq/l ale

potasemiei) și culminând cu fibrilație ventriculară sau asistolie (la valori ale potasiului seric peste 11 mEq/l).

9.6.7.3. DEPLASĂRI BRUȘTE ALE POTASIULUI ÎNTRE CELULE ȘI PLASMĂ

Deplasări bruște ale potasiului din sectorul celular spre cel extracelular și invers, se însoțesc de hiper- și respectiv hipopotasemii, chiar și atunci când funcția renală nu este afectată. Transferuri deosebit de rapide ale potasiului între cele două sectoare menționate joacă un rol important în patogeneza paralizilor periodice familiale. În forma hipokalemică crizele paralitice survin în cursul repaosului luat după un efort muscular intens, după consumul unei diete bogată în hidrați de carbon (mai ales după zahăr) sau după expunere la frig. Fenomenele pot fi de altfel reproduse cu regularitate după injectarea de glucoză și insulină. În cursul crizei se constată o scădere extrem de accentuată a potasiului seric cauzată de pătrunderea cationului în celule, în timp ce în perioada de remisie și între crize valorile potasemiei sunt normale.

În forma hiperkalemică fenomenele clinice sunt similare, dar nivelul potasiului seric poate crește până la valori de 8 mEq/l, în timp ce potasiul muscular scade. Crizele paralitice pot fi reproduse prin administrarea de potasiu.

Se consideră că fenomenele musculare consecutive acestor deplasări bruște de K, s-ar datora unor depolarizări a membranelor celulare care pot dura până la 24 de ore (8,9,11,17).

9.6.8. ANOMALII ÎN BALANȚA CLORULUI

Clorul este principalul anion din spațiul extracelular. Cantitatea totală de clor din organism este de 30 mEq/kg (adică 2100 mEq pentru un subiect de 70 kg). Aproximativ 88% din clor se află în lichidul extracelular și abia 12% în celule. Așa cum se vede din tabelul 9.2, concentrația ionilor de clor este cu ceva mai mare în lichidul interstițial decât în plasmă, datorită conținutului mai redus în proteine al interstițiului.

Ingestia de clor este paralelă cu cea de sodiu (sub formă de NaCl) și oscilează între 20 și 200 mEq clor/zi, iar calea majoră de eliminare este cea renală, eliminările prin sudoare și prin fecale fiind neînsemnate în condiții fiziologice.

Excesul de clor survine atunci când ingestia de cloruri depășește eliminările, iar astfel de situații coincid de regulă cu retenția de sodiu. Excepție face acidoza metabolică, în care creșterea clorului extracelular nu se asociază cu o creștere a sodiului. Într-o astfel de situație, scăderea bicarbonaților face ca neutralitatea electrică a fluidului să fie asigurată, în parte, de o creștere a clorului, iar acest proces se realizează printr-o mai mare proporție a reabsorbției tubulare a sodiului sub formă de NaCl decât sub forma de NaHCO_3 .

Deficitul de clor se produce atunci când eliminările depășesc aportul. Și în astfel de cazuri modificările clorului seric sunt de regulă paralele cu cele suferite de sodiu. Excepție face alcaloza metabolică când deficitul de clor nu se însoțește de o scădere a sodiului. În această situație excesul de bicarbonați face ca, în prezența unui conținut normal de sodiu, să fie necesară o eliminare sporită de clor în urină pentru ca neutralitatea electrică a plasmelor să fie menținută (clorul eliminat în urină se echilibrează cu potasiul).

Concentrația plasmatică de clor, ca și cea de sodiu, nu urmează întotdeauna modificările conținutului total în acești electroliți a organismului. De fapt, concentrațiile plasmatiche de Cl și de Na depind foarte mult de modificările suferite de volumul apei extracelulare (11) și implicit de gradul de diluție a electroliților.

9.7. CONSIDERAȚII CRITICE PRIVIND DIAGNOSTICUL ȘI TERAPIA PERTURBĂRILOR ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Deși în paginile precedente, anomaliile afectând apa, sodiul, potasiul și clorul, au fost tratate separat, trebuie subliniat că, în practică, anomaliile echilibrului hidroelectrolitic se prezintă sub aspecte deosebit de complexe și sunt de multe ori asociate cu anomalii ale echilibrului acidobazic. Succesul terapiei de corecție va depinde de măsura în care medicul este capabil să depisteze și să descifreze aceste anomalii.

În **diagnosticul perturbărilor hidroelectrolitice** se va ține cont de:

a. condiții de apariție a acestor perturbări (diarei, vărsături, transpirații, poliurie, diabet zaharat, șoc toxicoseptic etc.):

b. manifestările clinice: setea, uscăciunea mucoaselor și tegumentelor, hipotonia globilor oculari denotând deshidratarea celulară, iar cefaleea, obnubilăția, greața sugerând mai degrabă o hiperhidratare celulară;

c. cântărirea bolnavului orientează asupra pierderilor sau retențiilor de lichide, iar urmărirea volumului și densității urinei reprezintă un mijloc simplu de evaluare a mecanismelor homeostatice de la nivelul rinichilor;

d. probele de laborator au o importanță deosebită, dar ele vor fi interpretate în lumina datelor clinice și ținându-se cont de limitările arătate anterior, iar electrocardiograma este de o reală utilitate pentru depistarea eventualelor consecințe ale anomaliilor potasemiei asupra miocardului.

Terapia de corecție se va aplica cât mai precoc, dar, de preferință, după o evaluare corectă a osmolarității și a concentrației diversilor cationi. Este de asemenea necesar ca, înainte de aplicarea terapiei, medicul să se intereseze de starea diurezei, iar controlul de laborator se va efectua de repetate ori în cursul terapiei de corecție spre a se evita greșelile. Un tratament stereotip condus (de exemplu administrând unui bolnav oliguric o cantitate mare de soluții glucozate lipsite de sodiu), poate duce la hiperhidratare celulară cu consecințe extrem de severe. De fapt, în terapia bolnavilor anurici, volumul total de lichide administrate nu trebuie să depășească suma pierderilor prin scaun, sudoare și perspirație insensibilă. Întrucât bolnavul produce și un anumit volum de apă de oxidație, în perioada anurică se vor administra doar 600-800 ml de lichide, iar în perioada poliurică de revenire a diurezei, terapia de corecție va aduce un plus de lichide corespunzător cantitativ și calitativ cu eliminările urinare. În această perioadă poliurică ca și în cursul terapiei cu insulină și glucoză a unei come diabetice trebuie să se prevadă posibilitatea instalării unei hipopotasemii și să se aplice măsuri adecvate încă înainte de apariția manifestărilor clinice. De regulă administrarea orală a unei doze de 3 g KCl (1g KCl = 13 mEq K) de două ori pe zi previne o depleție de potasiu. În cazurile în care pierderile de potasiu sunt mai importante și atunci când se bănuiește instalarea unei depleții de potasiu, administrările acestui cation vor fi cu cel puțin 100 mEq/zi mai mult decât pierderile zilnice (calculate în funcție de conținutul în potasiu al lichidelor pierdute). Administrările în perfuzie se vor aplica doar atunci când calea orală nu este posibilă (vărsături, diarei) iar în astfel de situații concentrația în potasiu a lichidelor infuzate nu trebuie să depășească 50 mEq/l. Cantitatea administrată depinde de gravitatea hipopotasemiei, monitorizându-se de repetate ori potasemia și electrocardiograma.

Corecția unei hiperpotasemii se realizează prin injecții intravenoase de glucoză (25 g glucoză într-o soluție 50%) și de insulină (20 unități), avându-se grijă să se corecteze și o eventuală hiponatremie sau acidoză.

În cazurile unei hiperpotasemii exprimate la un bolnav cu insuficiență renală acută se indică hemodializa de urgență.

O atenție deosebită trebuie acordată perturbărilor hidroelectrolitice apărute la sugari. De notat că pierderile de apă prin perpirație insensibilă, calculate pe kg corp/oră sunt de trei ori mai mari la sugar, iar nevoile de lichide ale sugarilor sunt de 150 ml/kg/zi față de 30-40 ml/kg/zi la adulți. Pentru a se combate o deshidratare severă, este de multe ori nevoie de canularea unei vene și de administrarea a 175-225 ml/kg, ajustându-se conținutul în sodiu al lichidului de perfuzie în funcție de sodemie, iar potasiul se va administra doar după 12-24 de ore, atunci când debitul urinar s-a restabilit la valori adecvate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Beland B., Tuchelt H., Bahr V., Oelkers W. The role of atrial natriuretic factor [alpha-human ANF] (99-126)] in the hormonal and renal adaptation to sodium deficiency. *J.Clin. Endocrinol. and Metabol.* 1994, 79: 183-188.
2. Cucuianu M. *Biochimie clinică* vol.I, Ed.Dacia Cluj-Napoca, 1977.
3. Cuparencu B., Pleșca L. Actualități în farmacologie și Fiziopatologie, Editura Dacia Cluj-Napoca, 1995, pp.161-170.
4. De Bold A.J., Borenstein H.B., Veress A.T., Sonnenberg H. A rapid and patent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sci.* 1981, 28: 89-94.
5. Donaldson D. Polyuria and polydipsia in Williams and Marks (Editors) *Biochemistry in clinical practice* William Heinemann Medical Books London 1983, pp. 43-65.
6. First R.M. Renal function in Kaplan and Pesce (Editors) *Clinical Chemistry* C.V.Mosby Company, St.Louis Toronto, Princenton 1984, pp.403-419.
7. Ganguly A. Atrial natriuretic peptide-induced inhibition of aldosterone secretion: a quest for mediators (editorial) *Amer.J.Physiol.* 1992, 263: E181-194.
8. Ganong W.F. *Review of Medical Physiology*. Lange Medical Publications Los Altos, California, 1971.
9. Harper H.A. *Review of Physiological Chemistry*. Lange Medical Publications Los Altos, California, 1971.
10. Kangawa K., Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (-hANP). *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 1984, 118: 131-139.
11. Kleinman L.I., Lorenz J.M. physiology and pathophysiology of body water and electrolytes in Kaplan and Pesce (Editors) *Clinical Chemistry*, C.V.Mosby Company, St.Louis, Thoronto, Princenton 1984, pp. 363-386.
12. Kramer H.J., Kruck E. *Natriuretic hormone*. Springer Verlag New York 1978.
13. Lee M.E., Miller W.L., Edwards B.S., Burnett J.C. Role of endogenous atrial natriuretic factor in acute congestive heart failure. *J.Clin.Invest.* 1986, 84: 1962-1966.
14. Lang G., Dyball R.E., Luckman S.M. Mechanism of vasopressin secretion. *Hormone Research*, 1992, 37: 33-38.
15. Licata G., Volpe M., Scaglione R., Rubatu S. Salt regulating hormones in young normotensive obese subjects. Effects of saline load. *Hypertension* 1994, 23 (suppl.1) 120-124.
16. Stevens T.L., Wei C.M., Aarhus L.L., Heublein D.M., Kinoshita M., Matsuda Y., Burnett J.C. Modulation of exogenous and endogenous atrial natriuretic peptide by a receptor inhibitor. *Hypertension*, 1994, 23: 213-618.
17. Walters G. *Disorders of fluid and electrolyte balance* in Williams and Marks (Editors). *Biochemistry in Clinical practice* William Heinemann Medical Books London 1983, pp. 1-23.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Secreția de hormon antidiuretic (vasopresină, ADH) este stimulată de:
 - A. Scăderea volumului lichidului extracelular;
 - B. Creșterea osmolarității
 - C. Angiotensina II
 - D. Toți acești stimuli.
2. În hiperaldosteronismul primar (sindrom Conn) se constată:
 - A. Creșterea nivelului de aldosteron
 - B. Creșterea reninei plasmatic
 - C. Ambele modificări
 - D. Nici una.
3. Creșterea presiunii intraatriale determină:
 - A. O secreție de aldosteron
 - B. O eliberare de hormon natriuretic
 - C. O secreție de hormon antidiuretic
 - D. Toate aceste procese.
4. În care din stările patologice de mai jos se poate întâlni o hiperpotasemie ?
 - A. Hiperaldosteronism primar
 - B. Stenoză pilorică și vărsături incoercibile
 - C. Perioada anurică a unei insuficiențe renale acute
 - D. Tratament cu acetazolamidă.
5. În sindromul de strivire se poate constata:
 - A. O creștere a potasemiei
 - B. O creștere a capitalului potasic al organismului
 - C. Ambele fenomene
 - D. Nici unul.
6. Stabiliți corespondența între comportarea secreției de aldosteron și de renină și stările patologice cu care corespund:

<ol style="list-style-type: none">A. Renină crescută, aldosteron crescutB. Renină foarte scăzută, aldosteron mult crescutC. Renină crescută, aldosteron scăzutD. Renină scăzută, aldosteron scăzut	<ol style="list-style-type: none">I. Administrarea de substanțe care cresc volumul plasmaticII. Hiperaldosteronism primarIII. Hiperaldosteronism secundarIV. Insuficiență suprarenală
---	--
7. Care din diureticele de mai jos nu produce deperdiția de potasiu?
 - A. Tiazida
 - B. Furosemid
 - C. Acetozolamida
 - D. Spironolactona

8. Hipovolemia, asociată cu scăderea concentrației sodiului plasmatic, și hiperpotasemia se pot întâlni în:

- A. Hiperaldosteronismul primar (sindrom Conn)
- B. Hiperaldosteronism secundar
- C. Secreția autonomă de hormon antidiuretic
- D. Stadiile avansate ale bolii Addison.

9. Scăderea potasiului seric poate surveni după:

- A. Injectarea de glucoză și insulină unui bolnav cu acidoză diabetică
- B. Stenoză pilorică și vărsături repetate
- C. Hiperaldosteronism primar
- D. În toate aceste situații
- E. În nici una.

10. Edemele masive constituie o manifestare frecventă și caracteristică pentru:

- A. Hiperaldosteronismul primar (sindrom Conn)
- B. Boala Addison
- C. Stenoză arterială renală (Hipertensiune renovasculară)
- D. În toate aceste boli
- E. În nici una.

11. În insuficiența cardiacă cronică congestivă survine o creștere a secreției de aldosteron deoarece scăderea debitului cardiac determină eliberarea de renină.

12. Injectările intravenoase de glucoză și insulină produc o scădere a potasiului seric deoarece angiotensina II stimulează secreția de aldosteron.

13. Aldosteronismul produce o creștere a potasemiei deoarece hiposmolaritatea plasmei stimulează secreția de hormon antidiuretic.

14. În hiperaldosteronismul primar se constată o creștere marcată a reninei plasmatice deoarece angiotensina II stimulează eliberarea de hormon antidiuretic.

Cheia pentru întrebările 11,12,13,14:

- A. Ambele afirmații sunt corecte și legate cauzal
- B. Ambele afirmații sunt corecte dar nu sunt legate cauzal
- C. Prima afirmație corectă, a doua incorectă
- D. Prima afirmație incorectă, a doua corectă
- E. Ambele afirmații sunt incorecte.

10. ACIDUL URIC ȘI GUTA

Acidul uric este incriminat în patogeniza gutei, a litiazei renale și a nefropatiei urice. Valorile normale ale uricemiei se situează sub 7 mg/dl (420 μ mol/l) la bărbați și sub 6 mg/dl (360 μ mol/l) la femei. De regulă, copiii de ambele sexe prezintă valori joase, fiind în medie de 3.7 mg/dl (220 μ mol/l).

Examinările de laborator, efectuate cu prilejul unor controale de rutină, decelează însă, relativ frecvent valori ale uricemiei de peste 7 mg/dl, fără ca acești subiecți să prezinte manifestări clinice. S-ar părea deci că pentru dezvoltarea unor procese patologice este nevoie de intervenția unor factori adjuvanți (1,8,10).

Principalele probleme ridicate de rolul patogen al acidului uric ar putea fi deci astfel formulate:

a) care sunt mecanismele prin care se ajunge la creșterea concentrației de acid uric în umorile organismului;

b) care sunt mecanismele prin care acumulările de acid uric în organism, determină fenomene patologice.

10.1. SURSELE DE ACID URIC

Acidul uric reprezintă produsul final al metabolismului bazelor purinice (adenina și guanina) în organismul uman. De notat că, spre deosebire de om și maimuțele antropoide, majoritatea altor mamifere posedă mecanisme prin care acidul uric este degradat în continuare până la un compus mai solubil denumit alantoină. Pentru a înțelege modul în care se poate ajunge la o creștere a nivelului seric de acid uric este important să se precizeze sursele de purine din care va rezulta acid uric. În organismul uman purinele provin din alimente, din catabolismul nucleoproteinelor celulare proprii și prin sinteză endogenă "de novo" (fig.10.1).

Sinteza endogenă reprezintă cea mai importantă sursă de purine din organism. De notat însă că o alimentație bogată în surse de proteine, conținând multe celule și implicit mulți nuclei, poate duce la o creștere a uricemiei. Astfel de alimente sunt mai ales viscerele și icrele de pește, iar dintre vegetale spanacul și sparanghelul (8). Exagerarea catabolismului nucleoproteinelor proprii survine în câteva boli proliferative incluzând leucemiile, limfoamele, policitemia vera, mielomatoza, unele hemoglobinopatii evoluând cu hemoliză precum și în unele cazuri de psoriazis.

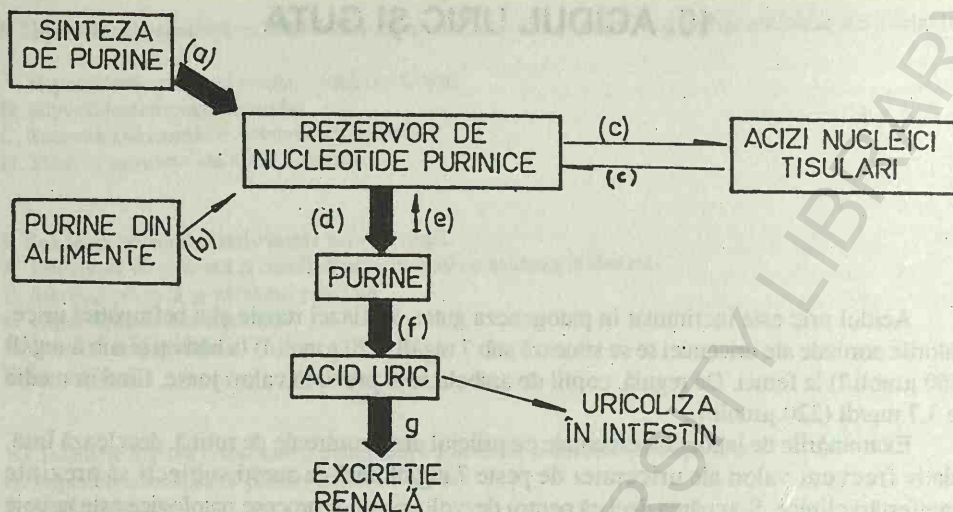


Fig.10.1. Originea și soarta purinelor din organism. Schema modificată după Zilva și Pannall (17).

Calea (a) crește în cazurile de hiperuricemie primară (enzimopatie)

Calea (b) mult influențată de regimul dietetic

Calea (c) mult accelerată în hemopatii maligne, terapie citostatică, psoriazis

Calea (d) dependentă de mărimea și viteza de primenire (turnover) a rezervorului de nucleotide purinice

Calea (e) activă în țesuturile extrahepatice (mai ales măduvă osoasă) și inefficientă în deficitul de HGPRT

Calea (f) poate fi diminuată prin inhibitori ai xantinoxidazei

Calea (g) perturbată în insuficiența renală, acidoză sau prin anomalii genetice ale secreției tubulare de acid uric; crește după medicația uricozurică.

10.1.1. SINTEZA DE PURINE

Chiar și în condițiile unei alimentații complet lipsite de o sursă de purine, organismul uman își poate sintetiza nucleoproteine conținând baze purinice, din al căror catabolism rezultă acid uric care se elimină prin urină. Astfel de observații constituie o dovadă a importanței majore a sintezei endogene de purine, care pornește de la elemente constitutive relativ simple și anume ribozo-5-fosfatul, glutamina, glicocolul, acidul aspartic, bioxidul de carbon și format.

Calea de sinteză a purinelor este deosebit de complexă, dar anumite etape ale acestui proces prezintă o importanță deosebită pentru înțelegerea anomaliilor survenite în metabolismul lor (fig.10.2).

Într-o primă etapă (a), are loc condensarea a două molecule de fosfat din ATP cu ribozo-5-fosfatul formându-se fosforibozilpirofosfat (PRPP), în cadrul unui proces catalizat de **PRPP sintetază**.

Într-o etapă ulterioară (b) gruparea amino a glutaminei este incorporată în ribozofosfat, eliminându-se două molecule de fosfat și acid glutamic. Din această reacție catalizată de **PRPP amidotransferază** rezultă fosforibozilamina (PR amina). Trebuie subliniat că enzima mai sus menționată joacă un rol cheie (rate limiting) în sinteza purinelor, fiind supusă unui control, în sensul limitării activității sale, atunci când se acumulează nucleotide purinice (AMP și GMP).

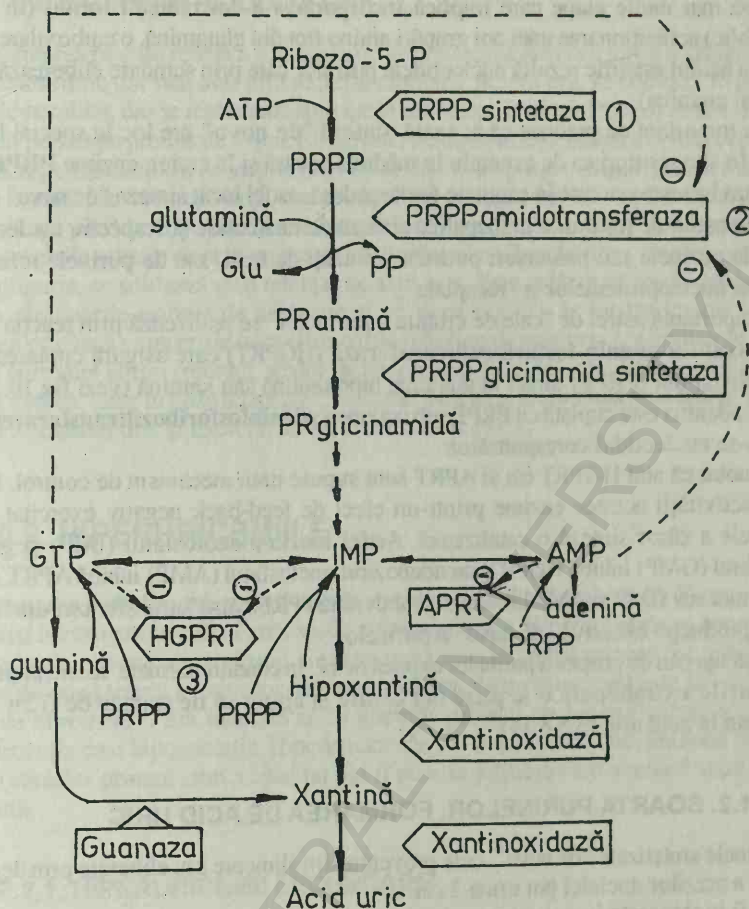


Fig.10.2. Reprezentare schematică a sintezei purinelor și a formării de acid uric. Pentru simplificare sunt omise din schemă etapele intermediare între PR-glicinamidă și IMP.

P - grupare fosfat; PP - pirofosfat; PR - fosforibozil; PRPP - fosforibozilpirofosfat; IMP - inozinmonofosfat; AMP - adenzinmonofosfat; GMP - guanozinmonofosfat; APRT - adenin-fosforiboziltransferaza.

1) inițierea sintezei de purine prin PRPP sintetază

2) la nivelul enzimei cheie PRPP-amidotransferază se exercită principalul mecanism de control al sintezei de purine prin feed-back negativ exercitat de nucleotide (GMP și AMP) și reprezentat în schemă prin linia întreruptă asociată cu semnul "⊖".

3) mecanismul de cruțare al purinelor catalizat de HGPRT în țesuturile extrahepatice.

Cu alte cuvinte produșii finali ai lanțului de reacții enzimatică exercită o inhibiție prin mecanism de feed-back negativ, prevenindu-se o producție excesivă de purine.

Ulterior, în etapa (c) se adaugă o moleculă de glicocol la PR amină sub acțiunea PR glicinamidsintetazei, rezultând PR-glicinamidă. Utilizându-se glicocol marcat se poate urmări viteza de sinteză a purinelor și implică a producției de acid uric, având în structura lui glicocol marcat radioactiv.

După mai multe etape care implică încorporarea a doi radicali formil (în prezența acidului folic) achiziționarea unei noi grupări amino (tot din glutamină, o carboxilare și o condensare cu acidul aspartic rezultă nucleotidele purinice care prin scindare eliberează purinele (adenina și guanina).

Este important de precizat că această sinteză "de novo" are loc în special la nivelul ficatului. În alte țesuturi ca de exemplu în măduvă osoasă și în creier, enzima **PRPP amidotransferază** lipsește sau este în cantitate foarte redusă, astfel încât sinteza "de novo" este mult limitată. În astfel de țesuturi extrahepatice sinteza de nucleotide și respectiv nucleoproteine depinde de purinele sau precursori purinici furnizați de ficat, sau de purinele rezultate din degradarea nucleoproteinelor și "recaptate".

O importanță astfel de "cale de cruțare a purinelor" se realizează prin reacția catalizată de **hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferază** (HGPRT) care asigură cuplarea fosforibozilpirofosfatului (PRPP) direct la guanină, hipoxantină sau xantină (vezi fig.10.2). Pe de altă parte, adenina este cuplată cu PRPP sub acțiunea **adeninfosforiboziltransferazei** (APRT) formându-se nucleotidul corespunzător.

De notat că atât HGPRT cât și APRT sunt supuse unui mecanism de control, în sensul limitării activității acestor enzime printr-un efect de feed-back negativ exercitat de către nucleotidele a căror sinteză o catalizează. Astfel inozin-monofosfatul (IMP) și guanozin-monofosfatul (GMP) inhibă HGPRT, iar adenzinmonofosfatul (AMP) inhibă APRT. Așa cum s-a arătat mai sus GMP și AMP limitează și activitatea PRPP amidotransferazei din ficat, prevenind o producție excesivă "de novo" a purinelor.

Existența căii de cruțare a purinelor explică de ce, în condiții normale, foarte puține purine din țesuturile extrahepatice se pierd din celule și ajung să fie captate de ficat spre a fi catabolizate în acid uric (3,5,8,14).

10.1.2. SOARTA PURINELOR, FORMAREA DE ACID URIC

Purinele sintetizate "de novo", cele provenite din alimente sau eliberate prin degradarea endogenă a acizilor nucleici pot urma 2 căi:

1. ele pot fi încorporate în noi acizi nucleici;
2. ele pot fi oxidate spre acid uric.

Degradarea bazelor purinice implică un proces de desaminare și un proces de oxidare. Astfel din dezaminarea guaninei sub acțiunea **guanazei** rezultă xantina, în timp ce adenina cuplată cu riboza (sub formă de nucleozid) este dezaminată sub acțiunea **adenozindeaminazei** formându-se inozina (un nucleozid dezaminat) care prin scindare eliberează hipoxantina.

Hipoxantina se oxidează în ficat sub acțiunea **xantinoxidazei**, formând xantină; care, la rândul ei se oxidează la acid uric într-un proces catalizat de aceeași xantinoxidază (vezi fig.10.2).

Întrucât organismul uman nu este dotat cu mecanisme care să asigure degradarea în țesuturi a acidului uric, îndepărtarea din organism a acestui produs de deșeu se face prin eliminare pe cale urinară și într-o măsură mai redusă, prin mucoasa intestinală. De notat că în lumenul intestinal poate avea loc un proces de uricoliză exercitat de bacteriile florei intestinale. Rolul uricolizei intestinale este însă minor în comparație cu excreția pe cale renală (8,14).

10.1.3. EXCREȚIA ACIDULUI URIC

Eliminarea pe cale renală a acidului uric se realizează prin mecanisme complexe de filtrare și reabsorbție dar mai ales prin secreție tubulară. Acidul uric se filtrează în totalitate la nivelul glomerulilor, dar se reabsoarbe aproape în întregime, la nivelul tubilor renali, un fenomen neobișnuit pentru un produs de deșeu. Eliminarea acidului uric se realizează însă printr-un proces de secreție tubulară. În condițiile unei diete lipsită de purine, eliminările urinare de acid uric sunt în medie de 400 mg/24h (2.4 mmol/zi), fiind de obicei sub 600 mg/24 ore (3.6 mmol/zi) dar pot ajunge până la 1000 mg/24 ore (6 mmol/zi) în cazul unei diete fără restricții.

Eliminările urinare de acid uric cresc proporțional cu fluxul urinar, iar orice situație care duce la oligurie, se soldează cu o retenție de acid uric. Este evident că insuficiența renală va perturba eliminările urinare de acid uric și va duce implicit la hiperuricemie. Mai puțin cunoscută este însă competiția între eliminările tubulare de acid uric și eliminările unor acizi organici cum sunt corpii cetonici, acidul lactic, precum și acidul salicilic și fenilbutazona. De subliniat însă că, luate în doze terapeutice maxime, salicilații și fenilbutazona inhibă reabsorbția tubulară a acidului uric și exercită un efect uricozuric (8).

10.2. HIPERURICEMIILE

Creșterea acidului uric peste 7 mg/dl se poate întâlni la aproximativ 3 cazuri din 1000 de subiecți investigați în cadrul unor studii epidemiologice. Hiperuricemia se poate datora fie unei producții crescute de acid uric, fie unei reduceri a excreției urinare. Se consideră că în mai bine de două treimi a cazurilor de hiperuricemie, cauza principală este în legătură cu un deficit de eliminare. Fără îndoială că la anumiți subiecți cu hiperuricemie se asociază o hiperproducție cu o hipoexcreție. Hiperuricemiile pot fi secundare unei anumite boli, sau pot avea un caracter primar, atunci când nu pot fi puse în legătură cu o anumită stare patologică cunoscută.

10.2.1. HIPERURICEMII SECUNDARE

Există numeroase boli care se asociază cu o creștere a concentrației serice de acid uric. Între acestea sunt de amintit:

a. **Insuficiența renală** care duce la creșteri evidente ale uricemiei atunci când filtrarea glomerulară scade sub 20 ml/min (11).

b. **Reducerea selectivă a excreției de acid uric** în absența unei insuficiențe renale, poate surveni în cazuri de acidocetoză, în acidoza lactică, precum și după medicamente care intră în competiție cu eliminările de acid uric (acid salicilic, aspirină, fenilbutazonă).

O serie de diuretice (tiazidice, furosemid, acid etacrinic și clortalidona) duc la creșterea uricemiei printr-un mecanism complex, în parte prin inhibarea secreției tubulare, în parte prin creșterea reabsorbției și în parte prin reducerea volumului lichidului extracelular (3,8). De notat însă că nici spironolactona și nici triamterenul nu interferează cu eliminările de acid uric.

c. **O dietă bogată în purine** duce nu numai la creșterea eliminărilor urinare de acid uric, dar și la creșterea uricemiei. Se consideră că diferențele în privința nivelului seric de acid uric între diverse populații și chiar între diverse clase sociale s-ar datora tocmai consumului diferit de alimente bogate în purine, fiind mai ridicat la popoarele cu standard mai ridicat de

civilizație și în clasele sociale cu un nivel mai ridicat de educație și de inteligență. Reamintim însă că purinele alimentare nu constituie principala sursă de purine din organism.

d. **Accelerarea procesului de primenire (turnover)** a nucleoproteinelor, respectiv asocierea unei sinteze accelerate cu o degradare în ritm rapid, se soldează în ultima instanță și cu o creștere a uricemiei. Astfel de situații survin în sindromul mieloproliferativ, limfoame, mielomatoză. Se consideră că hiperuricemia întâlnită la unii bolnavi cu psoriazis s-ar datora accelerării proceselor de turnover interesând nucleotidele și acizii nucleici din leziunile psoriatică. Este însă evident că eliberarea de baze purinice și formarea în exces de acid uric apare, în astfel de cazuri, doar atunci când "calea de cruțare" a purinelor este depășită (3.8).

e. **Intoxicațiile cu plumb și cu săruri de beriliu** produc defecte ale tubilor care, între altele, duc la o creștere a uricemiei.

f. **Hipercalcemia** cauzată de hiperparatiroidism evoluează cu tendința la hiperuricemie, probabil printr-un efect al concentrațiilor crescute de calciu asupra tubilor renali.

g. **Alcoolul** exercită un efect complex în economia acidului uric. Intoxicația acută poate duce la hiperuricemie prin acidocetoză și acidoză lactică. Ingestia cronică de alcool se asociază de multe ori cu un nivel moderat crescut al acidului uric, acest fenomen putând fi corelat și cu efectul inductor al alcoolului asupra enzimelor hepatice. De altfel creșterea uricemiei alături de creșterea activității gamaglutamiltransferazei (γ -GT) reprezintă un marker al alcoolismului cronic.

h. **Sindromul metabolic** constând din asocierea obezității de tip android (abdominal) cu hipertensiunea arterială, diabetul zaharat noninsulinodependent, hipertrigliceridemie și predispoziția la complicații trombotice ale aterosclerozei, evoluează adeseori cu creșteri ale uricemiei (7,15,16). Mecanismele acestei asocieri sunt încă neclare, dar se poate presupune o legătură patogenică cu hiperinsulinismul acestor subiecți și cu inducerea unor enzime hepatice, între care s-ar putea include și cele cu rol în producerea de purine și implicit de acid uric (vezi și capitolele 1 și 3). Pe de altă parte, hiperinsulinismul favorizează reabsorbția tubulară a acidului uric și astfel diminuează eliminările urinare.

i. **Anomalii genetice în metabolismul hidraților de carbon** ca de exemplu în glicogenoză de tip I (boala von Gierke) se pot asocia cu hiperuricemie. În astfel de cazuri cu deficit de glucozo 6-fosfatază, excesul de glucozo-6-fosfat trece pe calea șuntului hexozomonofosfatic, formându-se mari cantități de pentoze (ribozofosfați) care pot trece spre formarea de PRPP implicat în purinogeneză. Fenomenul sugerează o inducere a PRPP sintetazei prin exces de substrat (ribozo-5-fosfat).

Rolul factorilor genetici este sugerat de caracterul familial al hiperuricemiei la aproximativ o treime a pacienților cu gută și este de presupus că, în unele cazuri, astfel de factori genetici se exprimă prin modificări în activitatea enzimelor implicate în metabolismul purinelor. Aceste aspecte vor putea fi mai bine înțelese după expunerea anumitor anomalii majore în metabolismul purinelor, având caracter familial bine documentat și în care s-a elucidat mecanismul de transmitere și defectul enzimatic.

10.2.2. HIPERURICEMII PRIMARE PRIN ENZIMOPATII

Deși relativ rare, aceste anomalii ridică importante probleme de patogeneză, reprezentând adevărate experimente ale naturii. Un exemplu tipic este realizat de sindromul Lesch-Nyhan al cărui studiu a adus contribuții majore la înțelegerea mecanismelor prin care se reglează sinteza de purine și care aruncă o lumină asupra intervenției enzimopatiilor în patogeniza gutei.

10.2.2.1. SINDROMUL LESCH-NYHAN

Această anomalie genetică a fost descrisă pentru prima dată în 1964 de către studentul Michael Lesch și de către mentorul său William Nyhan. Copiii afectați de această boală apar normali la naștere, dar după aproximativ 1 an încep să prezinte fenomene neuropsihice (spasticitate, coreoatetoză și retardare mintală), iar în 50% a cazurilor apar crize epileptiforme. Simptomul cel mai impresionant este însă tendința la automutilare. Copiii își rod falangele și buzele, iar Nyhan a caracterizat acest comportament ca fiind "un ros al unghiilor de mare intensitate". De multe ori acești copii devin agresivi față de enturaj, iar, cu timpul, dezvoltă o gută severă și litiază renală urică.

Laboratorul evidențiază în unele cazuri o anemie megaloblastică, dar fenomenul cel mai pregnant este hiperuricemia și hiperuricozuria, sugerând o producție excesivă de acid uric. Deficitul enzimatic care stă la baza acestei hiperproducții este la nivelul hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferazei (HGPRT) cu rol pe calea de cruțare a purinelor. Ca urmare, guanina și hipoxantina nu mai sunt încorporate în nucleotidele respective care, în mod normal, exercită o inhibiție prin feed-back negativ asupra PRPP amidotransferazei. Scoaterea din joc a mecanismului de control se soldează cu o accelerare patologică a sintezei de purine care, neîncorporate în nucleotide, se transformă în acid uric. Locusul genetic al HGPRT este pe brațul lung al cromozomului X, iar conform acestei localizări boala se transmite printr-un mecanism legat de sex, fenomenele clinice fiind manifeste la copii de sex masculin, femeile fiind purtătoare ale anomaliei.

S-au descris deficite totale și parțiale ale activității HGPRT, iar prezența a doar câteva procente din activitatea acestei enzime este în măsură să prevină fenomenele neuropsihice, fără a putea împiedica apariția hiperuricemiei și a gutei.

În timp ce manifestările de gută sunt ușor de explicat, iar anemia megaloblastică, prezentă uneori, poate fi explicată printr-un consum exagerat de acid folic în procesul de purinosinteză, este încă dificil de a se găsi o explicație pe deplin plauzibilă a fenomenelor neuropsihice. În acest sens este demn de semnalat că sistemul nervos central și în special nucleii bazali sunt țesuturile cele mai bogate în HGPRT. Un deficit total al acestei enzime s-ar solda deci cu lipsa de formare și respectiv o depleție severă de nucleotide necesare celulelor nervoase. După Nyhan (9) s-ar putea produce un dezechilibru între stimulările serotoninergice și cele dopaminergice sau adrenergice și s-a încercat o terapie prin asocierea administrării de 5-hidroxitriptofan cu Carbidopa (un inhibitor al decarboxilazei) și cu imipramină cu rol de potențare a activității centrale a serotoninei. Acest tratament a produs o ameliorare evidentă, dar de scurtă durată, bolnavii dezvoltând rezistență la terapie după câteva luni.

De notat că boala poate fi detectată prenatal prin amniocenteză, celulele fetale afectate fiind incapabile să încorporeze hipoxantina marcată cu izotopi în acizii nucleici (9,14).

10.2.2.2. ALTE HIPERURICEMII CAUZATE DE ANOMALII ENZIMATICE

Existența unor cazuri cu deficit minor de HGPRT evoluând cu hiperuricemie și gută, dar fără manifestări neuropsihice, ridică problema rolului patogen al unor anomalii enzimatice ducând la o sinteză accelerată de purine și la hiperuricemie în cazul unor persoane întâlnite în practica curentă.

S-a arătat astfel că unii bolnavi cu hiperuricemie și gută prezintă un turnover accelerat al PRPP un precursor al purinelor (vezi fig. 10.2) și implicit o activitate crescută a PRPP sintetazei. Cercetări cu glutamină marcată au demonstrat o activitate sporită a glutamin-PRPP amidotransferazei care ar putea fi secundară creșterii concentrației substratului său adică al PRPP. Întrucât activitatea enzimei mai sus amintite este, în mod normal, limitată printr-un

mecanism de feed-back negativ exercitat de nucleotidele purinice, se ridică problema unei mutații care ar reduce sensibilitatea enzimei față de acest mecanism de control.

Se poate deci sugera că hiperuricemia poate fi cauzată de mutații la diverse nivele ale lanțului enzimatic cu rol în sinteza purinelor, ca de exemplu un deficit minor de HGPRT, o scădere a sensibilității glutamin-PRPP amidotransferazei la mecanismul de feed-back negativ, sau o inducere a PRPP sintetazei (2,5,14).

Ca urmare, hiperuricemiile și guta ar avea un caracter heterogen în funcție de situsul mutației. Există de altfel numeroase cazuri de hiperuricemie și gută în care nu s-au putut evidenția astfel de anomalii enzimatice și nu trebuie uitat că anomaliile în procesul de excreție a acidului uric joacă un rol major în multe cazuri de hiperuricemie.

10.3. CONSECINȚE ALE ACUMULĂRILOR DE ACID URIC

În funcție de absorbție, producție și eliminare, se realizează un rezervor (miscible pool) de acid uric, care, la adulții normali este de aproximativ 1200 mg și din care doar o parte circulează în sânge determinând uricemia. Implicațiile în patologie ale excesului de acid uric vor depinde deci în mai mare măsură de mărimea rezervorului de acid uric decât de uricemie.

Principala particularitate a acidului uric care îi conferă un rol patogenetic, este reprezentată de solubilitatea relativ redusă a acestui produs de deșeu al purinelor. Atunci când lichidul extracelular devine suprasaturat în urat monosodic, această sare se depune sub formă de cristale la nivelul articulațiilor determinând guta. Pe de altă parte, la un pH de 5 al urinei, acidul uric precipită ca atare și nu sub formă de urat monosodic.

10.3.1. GUTA

Artrita gutoasă este de aproximativ zece ori mai frecventă la bărbați decât la femei. Aspectul clinic al crizei acute de gută este bine cunoscut și constă în localizarea predilectă la haluce, fenomene inflamatorii locale și evoluție momentan benignă.

Așa cum s-a arătat mai sus, procesul este inițiat de depunerea cristalelor de urat monosodic la nivelul sinovialei articulare. Se declanșează ca urmare un proces inflamator, caracterizat prin atragerea neutrofililor care, fagocitând aceste cristale, eliberează enzime lizozomale și anioni superoxid în celulele sinoviale. Cristalele de urat monosodic produc totodată o activare a factorului XII și consecutiv a kaliceinei, precum și a sistemului complement având rezultat eliberarea unor factori chemotactici și vasodilatatori care accentuează penetrarea neutrofililor în sinovia inflamată (fig. 10.3).

Cercetări recente subliniază importanța citokinelor proinflamatorii în susținerea inflamației din criza gutoasă acută. De fapt s-a demonstrat o eliberare de factor de necroză tumorală (TNF- α), de interleukină-1 (IL-1) și de interleukină-8 (IL-8) în lichidul sinovial, iar aceste citokine induc molecule de adeziune (E-selectin) în endoteliile capilarelor din sinovie favorizându-se și pe această cale recrutare de celule cu rol în inflamație. Un rol important în patogeniza leziunilor li se atribuie și anionilor superoxid generați în neutrofilele activate (12,13).

Manifestările clinice sunt diferite atunci când guta capătă un caracter cronic. În astfel de situații depunerile repetate de urați în articulații duc la formarea așa ziselor "tofi gutoși", iar reacția țesuturilor din articulații realizează aspecte clinice similare celor din artrita reumatoidă (8).

barea dacă un deficit al acestui proteoglican nu ar putea contribui la dezvoltarea litiazei urice (1).

Suferințe renale ale bolnavilor hiperuricemiei se pot datora fie unei obstrucții a căilor urinare prin calculi de acid uric, fie unei precipitări a acidului uric în parenchimul renal (mai ales în medulară și în piramide). Se ajunge astfel la nefropatia urică care poate evolua spre nefroscleroză sau spre o pielonefrită. Afectarea renală se asociază de regulă cu hipertensiune, proteinurie și cu alterarea moderată dar progresivă a funcției renale (1,8).

10.3.3. PROBLEME DE DIAGNOSTIC ÎN BOLILE CAUZATE DE O ACUMULARE DE ACID URIC

Este de la sine înțeles că dozarea uricemiei și uricozuriei sunt nu numai utile dar absolut necesare. De notat însă că un bolnav gutoș, care este în cursul unui tratament cu agenți uricozurici sau cu inhibitori ai xantinoxidazei, va putea prezenta valori normale ale uricemiei.

Este de asemenea necesar ca bolnavii cu hiperuricemie să fie explorați în privința funcțiilor renale și este recomandabil ca unor astfel de bolnavi să li se exploreze glicemia, colesterolemia și nivelul trigliceridelor serice, avându-se în vedere posibilitatea asocierii acestor anomalii în cadrul sindromului metabolic.

Evaluarea eliminărilor urinare de acid uric pe 24 ore, pe lângă o dietă lipsită de purine, ar oferi posibilitatea de a face o diferențiere între hipersecretori și hiposecretori de acid uric.

Deși dovada certă a artritei gutoase este furnizată de evidențierea cristalelor de acid uric în lichidul sinovial, acest lichid nu poate fi întotdeauna obținut. Ca urmare diagnosticul se va baza pe uricemia persistent crescută și pe absența indicilor privind un alt tip de poliartrită. De notat că explorările radiologice nu pot diferenția artrita gutoasă față de o altă cauză de artrită erozivă. Tofii gutoși prezintă o colorație galben palidă dar materialul obținut în interior și care este urat monosodic are o culoare albă, diferită de a puroiului.

10.3.4. ALTE IMPLICAȚII PATOLOGICE ALE EXCESULUI DE ACID URIC

Cele mai multe organe (ficat, splină, plămâni) se opun depunerii de urat monosodic și deci nu dezvoltă procese inflamatorii generate de hiperuricemie.

Datorită însă asocierii hiperuricemiei cu boli cardiovasculare și în special cu hipertensiunea arterială și cu cardiopatia ischemică, se ridică problema unei posibile implicări a anomaliilor metabolismului purinelor în patogeniza acestor boli (7,16).

În cazul nefropatiei urice, hipertensiunea arterială ar putea fi secundară leziunilor renale și unei posibile implicări a mecanismului presor renal.

Este însă mult mai dificil, la ora actuală, de a se evalua importanța rolului aterogen al acidului uric față de factorii de risc confirmați. Există însă observații conform cărora, în cursul transformării hipoxantinei și xantinei în acid uric, sub acțiunea xantinoxidazei, se generează anioni superoxid, iar expresia acestei enzime este amplificată în endotelile subiecților cu hipercolesterolemie (4). S-ar putea astfel face unele speculații privind o posibilă acțiune sinergic aterogenă a anomaliilor metabolismului lipidic cu anomaliile metabolismului purinelor. În acest sens se poate bănuși că anionii superoxid generați în cursul formării acidului uric ar contribui la oxidarea particulelor de LDL, măbindu-le aterogenitatea și totodată ar accelera degradarea factorului de relaxare derivat din endotelii (EDRF) identificat cu oxidul nitric (NO), crescându-se astfel predispoziția la spasme arteriale.

10.4. BAZELE BIOCHIMICE ALE TERAPIEI HIPERURICEMIILOR

O astfel de terapie este menită să reducă capitalul de acid uric al organismului și să combată efectele nocive proinflamatorii ale depunerilor de urați în țesuturi.

În **criza acută de gută**, când inflamația joacă rolul cel mai important, se va administra o medicație antiinflamatorie (fenilbutazonă, indometacin). O acțiune oarecum specifică în combaterea inflamației gutoase este exercitată de colchicină ($4 \times 5 \text{ mg/zi}$) care reduce mobilitatea granulocitelor, limitând astfel rolul acestora în secvența mecanismelor patogenice descrise anterior. Dozele mari și prelungite de colchicină exercită însă efecte toxice la nivelul stomacului, sistemului nervos central și măduvei osoase.

Combaterea hiperuricemiei se realizează fie prin creșterea eliminărilor urinare de acid uric (agenți uricozurici) fie prin reducerea producției de acid uric (inhibarea xantinoxidazei).

Medicația uricozurică beneficiază de un preparat deosebit de activ Benemid (probenecid) care în doze de 2-3 g/zi produce atât o limitare a retrorezorbției cât și o creștere a excreției tubulare de acid uric.

Efecte uricozurice se obțin și cu sulfipirazona (Anturan) în doze de $4 \times 100 \text{ mg/zi}$. De notat că, în doze mici (utilizate ca medicație antitrombotică) aspirina inhibă secreția tubulară, dar în doze mari (antiinflamatorii) acest medicament inhibă reabsorbția tubulară, producând o creștere a eliminărilor urinare de acid uric.

Reducerea producției de acid uric se obține prin inhibarea xantinoxidazei, iar medicamentul utilizat de predilecție este Alopurinolul. Fiind un analog chimic al xantinei acest medicament, administrat în doze de 200 mg/zi, inhibă competitiv xantinoxidaza oprind transformarea oxidativă a hipoxantinei și a xantinei spre acid uric și limitând totodată producerea de anioni superoxid. Se ajunge astfel la o acumulare de xantină care, deși mai solubilă decât acidul uric, poate duce la litiază urinară xantică. Alopurinolul este de regulă bine tolerat, dar poate cauza erupții cutanate și în mod excepțional, fenomene de colestază și inhibarea măduvei osoase.

Avându-se în vedere că medicația uricozurică, care duce la o creștere a concentrației urinare de acid uric, se poate solda cu precipitări de acid uric în tractul urinar, alopurinolul este de preferat medicației uricozurice în anumite situații, ca de exemplu:

- a. gută asociată cu insuficiență renală;
- b. nefropatia urică;
- c. gută asociată cu litiază renală;
- d. în cazurile în care este evidentă o hiperproducție de acid uric.

De notat că în cazurile renitente de gută, alopurinolul poate fi asociat cu medicația uricozurică. Pe de o parte, cazurile de hiperuricemie, care nu prezintă manifestări clinice, nu necesită o terapie de reducere a nivelului seric de acid uric.

Mijloacele de prevenire a litiazei urice se bazează pe următoarele principii:

1. restrângerea consumului de alimente bogate în purine (ficat, rinichi, icre de pește);
2. creșterea ingestiei zilnice de apă, spre a se preveni o suprasaturare în acid uric a urinei;
3. administrarea de alcaline, avându-se în vedere că o creștere a valorilor de pH urinar va face ca mai mult acid uric să treacă sub formă de urat monosodic ionizat;
4. terapia cu alopurinol este indicată doar în cazurile în care există indicii certe privind o hiperproducție de acid uric (1,8,17).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Alston W.C. Urolithiasis in Williams and Marks (editors) Biochemistry in Clinical practice. William Heinemann. Medical Books Limited London, 1983, pp.290-296
2. Bory C., Chantoin C., Bouliou R. Abnormal purine and pyrimidine metabolism in inherited superactivity of PRPP synthetase. *Adv. Exp.Biol.* 1994, 370, 15-18.
3. Fekete T. Metabolismul purinic și pirimidinic. Acidul uric. In M.Cucuianu, N.Olinie, A.Goia, T.Fekete. Biochimie clinică. Editura Dacia 1979, pp. 267-302.
4. Harrison D.G., Ohara Y., Physiologic consequences of increased oxidant stress in hypercholesterolemia and atherosclerosis. Implications for impaired vasomotion. *Amer.J.Cardiol*, 1995, 75: 75B-81B.
5. Keley E.N. Inborn errors of purine metabolism. *Arth.Rheum.* 1977 20 suppl. 221-228.
6. Klineberg J.R. The management of asymptomatic hyperuricemia. *Clin.Rheum.Dis.* 1977, 3: 159-169.
7. Lee J., Sparrow D., Vokonas P.S., Weiss S.T. Uric acid and coronary heart disease risk: evidence for a role of uric acid in obesity-insulin resistance syndrome. *Am.J.Epidemiol.* 1995, 142 (3): 288-294.
8. Myles A. Disorders of joints in Williams and Marks (editors) Biochemistry in Clinical practice. William Heinemann. Medical Books Limited London, 1983, pp.325-336.
9. Nyhan W.L., Johnson H.G., Kaufman I.A., Jones K.L. Serotonergic approaches to the modification of behaviour in Lesch-Nyhan syndrome, in Applied Research in Mental Retardation. Pergamon Press New York, 1980, vol.I pp. 25-40.
10. Rozenberg S., Bourgeois P. Que reste-t-il de la goutte. *Rev.Prat.* 1994, 44 (2), 178-182.
11. Steele T.H., Rieselbach R.E. The contribution of residual nephrons within the chronically diseased kidney to urate homeostasis in men. *Am.J.Med.*, 1967, 43: 876-886.
12. Varani J., Ward P.A. Mechanisms of neutrophil-dependent and neutrophil-independent endothelial cell injury. *Biol.Signals*, 1994, 3 (1): 1-14.
13. Weinberger A. Gout, uric acid metabolism and crystal-induced inflammation. *Curr.opin.Rheumatol.* 1995, 7 (4), 359-363.
14. Wyngaarden J.B., Kelley W.N. Gout in Stanbury Wyngaarden and Fredrickson (Editors). The metabolic basis of inherited disease. McGraw-Hill. New York 1978; 116-1010.
15. Zavaroni I., Bonini L., Fantuzzi M., Dall'Angelo E., Passeri M., Reaven G.M. Hyperinsulinism, obesity and syndrome X. *J.Intern Med.* 1994, 235, 51-56.
16. Zdrenghea D., Marta D., Constantinescu M., Cucuianu M. Behaviour of uricemia in hyperlipoproteinemic subjects. *Rev.Roum.Med.Int.*, 1980, 18, 385-390.
17. Zilva J.F., Pannal P.R. Clinical chemistry in diagnosis and treatment. Lloyd-Luke 1972.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Care este sursa cea mai importantă de purine:

- A. Cea alimentară
- B. Catabolismul nucleoproteinelor celulare
- C. Sinteza "de novo".

2. Eliminarea pe cale urinară a acidului uric se face:

- A. Prin filtrare glomerulară
- B. Prin secreție tubulară
- C. Prin ambele mecanisme

3. Stabiliți corespondența între enzimele de mai jos și rolul lor în metabolismul purinelor:

- | | |
|---|---|
| A. Hipoxantin-guanin fosforilboziltransferaza (HGPRT) | I. duce la formarea de acid uric din xantină |
| B. Fosforibozilpirofosfat sintetaza (PRPP sintetaza) | II. inițiază sinteza purinelor |
| C. Glutamin PRPP amidotransferaza | III. catalizează formarea fosforibozilaminei. Este inhibată de către nucleotide prin feed-back negativ. |
| D. Xantinoxidaza | IV. intervine pe calea de cruțare a purinelor. |

4. Care dintre mecanismele de mai jos pot fi incriminate în patogeniza crizei acute de gută:

- A. Precipitarea unor cristale de urat monosodic în sinoviala unei articulații
- B. Penetrarea neutrofililor în articulație și înglobarea cristalelor de urat monosodic
- C. Eliberarea de enzime din neutrofilele activate
- D. Eliberarea de citokine din monocite/macrofage
- E. Inducerea unor proteine de adeziune în endotelii care facilitează "recrutarea" celulelor cu rol în inflamație
- F. Toate aceste mecanisme.

5. Corelați medicamentul antigutos cu mecanismul lui de acțiune:

- | | |
|------------------|--|
| A. Allopurinol | I. Crește excreția renală de acid uric |
| B. Colehicină | II. Inhibă xantinoxidaza |
| C. Probenecid | III. Antiinflamator |
| D. Fenilbutazonă | IV. Inhibă migrarea leucocitelor. |

6. În sindromul Lesch-Nyhan are loc o accelerare a sintezei de purine, deoarece, prin lipsa de formare a nucleotidelor în țesuturile extrahepatice nu mai are loc inhibiția prin feed-back negativ a glutamin-PRPP amidotransferazei din ficat.

7. La un pH al urinei în jur de 5 acidul uric tinde să precipite deoarece în mediu acid se formează urat monosodic.

8. În leucemiile mieloid cronice tratate cu citostatice are loc o creștere a uricemiei și uricozuriei deoarece în deficitul de HGPRT are loc o sinteză accelerată de purine.

9. Principala cauză a hiperuricemiilor este reprezentată de consumul exagerat de ficat, rinichi, iere de pește și sparanghel deoarece aceste alimente sunt bogate în acizi nucleici și respectiv în purine.

10. Probenecidul inhibă xantinoxidaza deoarece această enzimă intervine în degradarea acidului uric.

11. Dozele terapeutice antiinflamatorii de salicilați și aspirină cresc eliminările urinare de acid uric, deoarece în astfel de doze aceste medicamente inhibă reabsorbția tubulară a acidului uric.

Cheia pentru întrebările 6-11:

- a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
- b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
- c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
- d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
- e. ambele afirmații sunt incorecte.

**Tabel de transformare în sistem internațional (SI) ale unor componente ale serului uman utilizate
frecvent în laboratorul clinic**

Componente (greutate moleculară relativă)	Unități SI	Factori de conversie (multiplicare)		Unități vechi (încă folosite)
		→ unități vechi	SI ←	
Acid uric (168,11)	μmol/l	0,0168	59,485	mg/dl
Albumină (69000)	μmol/l	0,0069	144,93	g/dl
Amoniac (17,03)	μmol/l	1,703	0,5872	μg/dl
Bilirubină (584,65)	μmol/l	0,0585	17,104	mg/dl
Calciu (40,08)	mmol/l	4,008	0,2495	mg/dl
Colesterol (386,64)	mmol/l	38,664	0,0259	mg/dl
Creatină (131,14)	μmol/l	0,0131	76,254	mg/dl
Creatinină (113,12)	μmol/l	0,0113	88,402	mg/dl
Cupru (63,546)	μmol/l	6,3546	0,1574	μg/dl
Fier (55,847)	μmol/l	5,5847	0,1791	μg/dl
Fosfor (30,974)	mmol/l	3,0974	0,3229	mg/dl
Glucoză (180,16)	mmol/l	18,016	0,0555	mg/dl
Lactat-Acid lactic (90,08)	mmol/l	9,008	0,111	mg/dl
Magneziu (24,312)	mmol/l	2,4312	0,4113	mg/dl
Trigliceride (în medie 875)	mmol/l	87,50	0,0114	mg/dl
Uree (60,06)	mmol/l	6,006	0,1665	mg/dl
Zinc (65,37)	μmol/l	6,537	0,1530	μg/dl

Tabel orientativ privind valorile normale ale activităților unor enzime determinate de rutină în laboratorul clinic la 37°C și utilizându-se reactivi optimizați furnizați de firmele Boehringer, Nobis și Redox.

Enzime	Valori normale
Aspartataminotransferaza (ASAT) *	< 37 U/l la bărbați
	< 31 U/l la femei
Alaninaminotransferaza (ALAT) *	< 42 U/l la bărbați
	< 32 U/l la femei
Lactatdehidrogenaza (LDH)	250-500 U/l
Creatinkinaza (CK, CPK)	< 190 U/l la bărbați
	< 165 U/l la femei
Colinesteraza (CHE)	4500-10000 U/l
Fosfataza alcalină (AIP)	< 280 U/l la adult
	< 800 U/l la copil
g-glutamyltransferaza (g-GT)	< 50 U/l la bărbați
	< 32 U/l la femei
Amilaza serică	< 220 U/l
Amilaza urinară/24 h	< 900 U/24 h

* Deși valorile normale maxime ale activității ASAT sunt ușor inferioare valorilor normale maxime ale activității ALAT, la subiecții normali se observă de regulă că activitatea ASAT este cu ceva mai ridicată decât activitatea ALAT (evident ambele în limite normale).

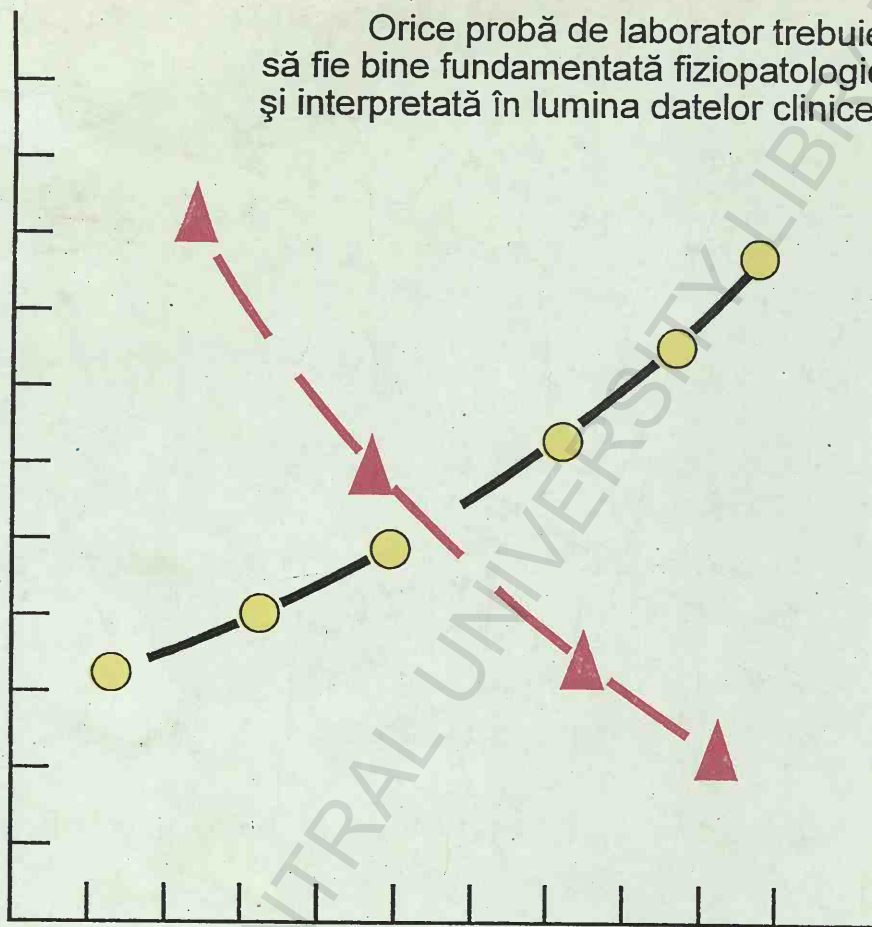
Redactor MONICA CREMENE
Tehnoredactor GHEORGHE SANDU
Corector MARIA BUZURA
Tehnoredactare computerizată MONICA CREMENE

Apărut: 1998. Bun de tipar: 12.05.1998. Comanda nr. 3792
Coli de tipar: 23. Hârtie: velină 70 g/mp. Format: 70x100/16

Tiparul executat sub comanda nr. 80131
la Imprimeria „ARDEALUL” Cluj-Napoca
B-dul 21 Decembrie nr. 146
ROMÂNIA

195798

Orice probă de laborator trebuie
să fie bine fundamentată fiziopatologic
și interpretată în lumina datelor clinice.



Lei 55000

ISBN 973-35-0734-2